

**ANALISIS SENYAWA BERBERIN PADA EKSTRAK ULTRASONIK
TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn) MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) SISTEM GRADIEN**

SKRIPSI

Oleh
NOURMA ANINDYTA PUTRI
NIM. 15630003



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**ANALISI SENYAWA BERBERIN PADA EKSTRAK ULTRASONIK
TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn) MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) SISTEM GRADIEN**

SKRIPSI

Oleh
NOURMA ANINDYTA PUTRI
NIM. 15630003

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019

ANALISIS SENYAWA BERBERIN PADA EKSTRAK ULTRASONIK
TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn) MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) SISTEM GRADIEN

SKRIPSI

Oleh
NOURMA ANINDYTA PUTRI
NIM. 15630003

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 4 Desember 2019

Pembimbing I

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Pembimbing II

Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19710311 200312 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan



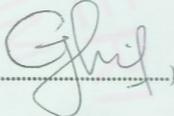
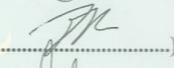
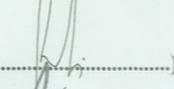
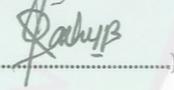
Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

ANALISI SENYAWA BERBERIN PADA EKSTRAK ULTRASONIK
TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn) MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) SISTEM GRADIEN

SKRIPSI

Oleh
NOURMA ANINDYTA PUTRI
NIM. 15630003

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 4 Desember 2019

Penguji Utama	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(..... 
Ketua Penguji	: Diana Candra Dewi, M.Si NIP. 19770720 200312 2 001	(..... 
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(..... 
Anggota Penguji	: Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19710311 200312 1 002	(..... 

Mengetahui,
Ketua Jurusan



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nourma Anindyta Putri
NIM : 15630003
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Analisis Senyawa Berberin pada Ekstrak Ultrasonik
Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn)
menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
(KCKT) Sistem Gradien

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambialihan data, tulisan atau fikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiblanan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 Desember 2019
Yang membuat pernyataan



Nourma Anindyta Putri
NIM. 15630003

PERSEMBAHAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk:

Ibuku tercinta yang selalu mendoakan dan berjuang agar putrinya senantiasa diberikan kemudahan dan kelancaran dalam menggapai cita-cita dan kebahagiaan.

Segala ridho dan nasihat yang mengantarkan putrinya mencapai kedewasaan.

Ayahku tersayang yang selalu mendoakan dan mengajarku akan pentingnya mendekati pada sang Pencipta.

Adik-adikku tersayang, Al-Hafidz dan Saras yang selalu menghiburku dan menjadi motivasiku untuk selalu berjuang menggapai cita-cita dan kesuksesan.

Orang-orang yang menganggapku sebagai anak yang ada di Kediri, Blitar, dan Ampelgading yang selalu memberikan restu dan doa untuk segala kelancaran jalanku dalam menggapain impian.

KATA PENGANTAR

Penulis mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, dimana atas segala ridho, taufik, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Analisis Senyawa Berberin pada Ekstrak Ultasonik Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn) menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Sistem Gradien”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) dengan semaksimal mungkin, meskipun masih jauh dari kesempurnaan. Semoga dengan segala yang diupayakan oleh penulis dapat bermanfaat bagi banyak orang, menjadikan ilmu yang bermanfaat, dan diberkahi oleh Allah SWT. Aamiin.

Selama proses penulisan skripsi ini penulis mendapat banyak bimbingan, nasihat, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu dan Ayah tercinta yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun material sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M. Si selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, bantuan moril serta material kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Ibu Armeida Dwi Ridhowati, M.Si, selaku dosen konsultan yang selalu memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

4. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan pengalaman sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
5. Bapak A. Ghanaim Fasya, M. Si, Ibu Diana Candra Dewi, M. Si, dan Bapak Ahmad Abtokhi, M. Pd atas segala masukan dan sarannya sehingga menjadikan skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Bapak Eko selaku teknisi KCKT Departemen Kimia Universitas IPB atas bantuan dalam menyelesaikan penelitian yang dilakukan oleh penulis.
7. Teman-teman Kimia 2015 khususnya Arsitek Molekul dan teman-teman tim riset Kimia Analisis Fitofarma 2018 UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Teman-teman kos di Malang khususnya Mbak Ulfa yang selalu mendoakan untuk kebaikan penulis.
9. Ibu Elok Kamilah Hayati, M. Si selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Prof. H. Abdul Haris M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Bersama harapan dan doa semoga apa yang telah mereka berikan kepada penulis, mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Semoga tugas akhir skripsi dapat memberikan informasi dan kontribusi yang baik sehingga dapat bermanfaat untuk banyak orang. Aamiin.

Malang, 27 November 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
المخلص	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Anting-anting (<i>Acalypha indica</i> L.)	8
2.2 Senyawa Berberin	10
2.3 Ekstraksi Ultrasonik menggunakan Etil Asetat.....	11
2.4 Optimasi Senyawa Berberin menggunakan KCKT	14
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat	24
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.2.1 Alat	24
3.2.2 Bahan	24
3.3 Rancangan Penelitian	25
3.4 Tahapan Penelitian	25
3.5 Prosedur Penelitian.....	26
3.5.1 Preparasi Sampel	26
3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik menggunakan Pelarut Etil Asetat	26
3.5.3 Optimasi Pemisahan Senyawa Berberin menggunakan KCKT	26
3.5.3.1 Preparasi Larutan Stok Standar Berberin.....	26
3.5.3.2 Pembuatan Fase Gerak.....	26
3.5.3.3 Optimasi Pemisahan menggunakan KCKT	27
3.5.4 Identifikasi Senyawa Berberin menggunakan KCKT.....	27
3.5.5 Penentuan Kadar Senyawa Berberin.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel	29
4.2 Ekstraksi Ultrasonik menggunakan Pelarut Etil Asetat	30

4.3 Optimasi Pemisahan Senyawa Berberin menggunakan KCKT	31
4.4 Identifikasi Senyawa Berberin menggunakan Metode Adisi	40
4.5 Penentuan Kadar Senyawa Berberin	41
4.6 Integrasi Sains dengan Islam	42
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman Anting-Anting (<i>Acalypha indica</i> L.)	8
Gambar 2.2	Struktur Senyawa Berberin	10
Gambar 2.3	Mekanisme Gangguan Dinding Sel	12
Gambar 2.4	Kromatogram Berberin dengan KCKT Sistem Isokratik.....	15
Gambar 2.5	Kromatogram Berberin dari <i>Berberis aristata</i> DC	17
Gambar 2.6	Kromatogram Berberin dari <i>Mahonia manipurensis</i>	17
Gambar 2.7	Kromatogram Berberin dari <i>Anemarrhena asphodeloides</i>	18
Gambar 2.8	Kromatogram Berberin dari <i>Tinospora cordofolia</i>	19
Gambar 2.9	Kromatogram Berberin dari <i>Tinospora crispa</i> Miers	19
Gambar 2.10	Kromatogram Berberin dari Formula Polih herbal	20
Gambar 2.11	Kromatogram Berberin dari <i>Coptidis rhizoma</i>	20
Gambar 4.1	Kromatogram berberin kondisi eluen metanol (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 1	32
Gambar 4.2	Kromatogram berberin kondisi eluen metanol (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 2	32
Gambar 4.3	Kromatogram berberin kondisi eluen metanol (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 3	33
Gambar 4.4	Kromatogram berberin kondisi eluen asetonitril (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 1	33
Gambar 4.5	Kromatogram berberin kondisi eluen asetonitril (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 2	34
Gambar 4.6	Kromatogram berberin kondisi eluen asetonitril (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 3	34
Gambar 4.7	Kromatogram identifikasi berberin menggunakan metode adisi ...	40

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil dan Kondisi Pemisahan Berberin menggunakan KCKT	16
Tabel 4.1 Hasil Optimasi Pemisahan Masing-Masing Sistem Gradien	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja	52
Lampiran 2 Diagram Alir.....	53
Lampiran 3 Pembuatan Larutan	57
Lampiran 4 Perhitungan Nilai <i>Signal to Noise</i> (S/N)	58
Lampiran 5 Perhitungan Nilai Resolusi Pemisahan Senyawa Berberin	60
Lampiran 6 Perhitungan Kadar Senyawa Berberin.....	62
Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian.....	63
Lampiran 8 Jumlah Noise dan Luas Area Puncak Berberin	75



ABSTRAK

Putri, Nourma Anindyta. 2019. **Analisis Senyawa Berberin pada Ekstrak Ultrasonik Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica*. L) menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Sistem Gradien**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si. Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M. Pd.

Kata kunci: Tanaman Anting-anting (*Acalypha Indica* Linn), Berberin, Ekstraksi Ultrasonik, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) merupakan tanaman liar yang berpotensi dijadikan sebagai obat. *Acalypha indica* Linn diketahui mengandung senyawa golongan alkaloid isokuinolin berberin. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi optimal pemisahan dan mengidentifikasi senyawa berberin dalam tanaman anting-anting menggunakan KCKT untuk kemudian ditentukan kadarnya.

Sampel dalam penelitian ini di ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan metode ekstraksi ultrasonik selama 20 menit pada frekuensi 42 KHz. Optimasi parameter sistem KCKT yang dilakukan yakni pada laju alir 1,0 mL/min dengan jenis fase gerak metanol : asam format (0,1%) dan asetonitril : asam format (0,1%) pada beberapa variasi sistem elusi. Instrumen KCKT yang digunakan *UFLC SPD-20A*, *prominence UV/Vis detector*, kolom C-18 4,6 x 250 mm, 5 μ m dengan metode gradien pada panjang gelombang 345 nm.

Kondisi optimum yang diperoleh berada pada fase gerak metanol : asam format (0,1%) dengan sistem elusi 0-10 menit 80% asam format (0,1%), 10-20 menit 50% asam format (0,1%), 20-25 menit 50% asam format (0,1%), 25-30 menit 80% asam format (0,1%). Identifikasi menggunakan metode adisi menghasilkan kenaikan intensitas pada puncak senyawa berberin berada pada waktu retensi 15,492. Hasil analisis kuantitatif menunjukkan kadar senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting sebesar 33,578 ppm.

ABSTRACT

Putri, Nourma Anindyta. 2019. **Analysis of Berberine Compounds on Ultrasonic Extract of Anting-anting Plants (*Acalypha indica*. L) Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Gradient System.** Thesis. Chemistry Department of Science and Technology Faculty of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si. Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M. Pd.

Keywords: Anting-Anting Plants (*Acalypha indica* Linn), Berberine, Ultrasonic Extraction High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Anting-anting plants (*Acalypha indica* Linn) is a wild plant that has the potential to be used as medicine. *Acalypha indica* Linn is known to contain a compound of isokuinolin alkaloids of berberine. This research was conducted to determine the optimal conditions of separation and to identify berberine compounds in anting-anting plants using HPLC to determine the levels.

The sample in this research was extracted using ethyl acetate solvent with ultrasonic extraction method for 20 minutes at a frequency of 42 KHz. The optimization of the HPLC system parameters was carried out at a flow rate of 1.0 mL / min and the type of mobile phase of methanol : formic acid (0.1%) and acetonitrile : formic acid (0.1%) with several variations of the elution system. HPLC instrument used UFLC SPD-20A, UV/Vis detector, C-18 column 4.6 x 250 mm, 5 μ m with gradient method at a wavelength of 345 nm.

The optimum conditions obtained were in the mobile phase of methanol : formic acid (0.1%) with an elution system 0-10 minutes 80% formic acid (0,1%), 10-20 minutes 50% formic acid (0.1%) , 20-25 minutes 50% formic acid (0.1%), 25-30 minutes 80% formic acid (0.1%). Identification using the addition method shows that the berberine compound is at a retention time of 15.492 minutes. The results of quantitative analysis showed the levels of berberine compounds in the anting-anting plants ethyl acetate extract amounted to 33.578 ppm.

مستخلص البحث

فوتري، نورما أنينديتا. 2019. تحليل المركبات بربرين في المستخلص بالموجات فوق الصوتية من نبات أنتينج (*Acalypha indica* Linn) باستخدام نظم التدرج اللوني السائل عالي الأداء (ك ج ك ت) رسالة الليسانس. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الحكومية الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير. المشرف الثاني: أحمد أبطوخي والماجستير. والمستشارة: أرميدة دوي ريزواتي مجيد، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: نبات أنتينج (*Acalypha indica* Linn)، بربرين، طرق الاستخراج بالموجات، تحليل كروماتوجرافي سائل عالي الأداء (ك ج ك ت)

نبات أنتينج (*Acalypha indica* Linn) هو نبات بري له القدرة على استخدامه كعقار مضاد. ومن المعروف *Acalypha indica* Linn تحتوي على مركب من قلويدات ايساكولين من بربرين. أجري هذا البحث لتحديد الظروف المثلى للفصل وتحديد المركبات البربرية في نباتات القرط باستخدام (ك ج ك ت) لتحديد المستحويات.

تم استخراج العينات في هذا البحث باستخدام طرق الاستخراج بالموجات فوق الصوتية في الوقت عشرون دقائق في تردد اربعون واثنان KHz. تم إجراء تحسين لمعلمت نظام (ك ج ك ت) بمعدل تدفق قدره 1,0 مل / دقيقة ونوع الطور المتحرك من الميثانول: حمض الفورميك (1,0٪) وأسيونيتريل: حمض الفورميك (1,0٪) مع العديد من الاختلافات في نظام الشطف. تستخدم أداة ك ج ك ت أف ل ج س ف د 20، كاشف الأشعة فوق البنفسجية / الأشعة فوق البنفسجية، عمود ج - 184,6 x 250 مم، 5 ميكرون مع طريقة التدرج بالطول موجة 345 نانومتر.

كانت الظروف المثلى التي تم الحصول عليها في الطور المتحرك من الميثانول: حمض الفورميك (1,0٪) مع نظام شطف 0-10 دقائق 80٪ حمض الفورميك (1,0٪)، 10-20 دقائق 50٪ حمض الفورميك (1,0٪)، 20-25 دقيقة 50٪ حمض الفورميك (1,0٪)، 25-30 دقيقة 80٪ حمض الفورميك (1,0٪). تبين الهوية باستخدام طريقة الجمع أن مركب

البربرين في وقت استبقاء قدره 15.492 دقائق. أظهرت نتائج التحليل الكمي أن مستويات مركبات البربرين في مستخلص أسيتات إيثيل نبات القرط قد بلغت 33.578 جزء في المليون.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman merupakan sumber kehidupan bagi hewan dan manusia. Beberapa tumbuhan dapat difungsikan sebagai obat dikarenakan mengandung senyawa-senyawa yang bersifat farmakologi. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat adalah tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) (Hayati dan Halimah, 2010). Metabolit sekunder dalam tanaman anting-anting seperti berberin merupakan ciptaan Allah yang termasuk ke dalam zat yang sangat kecil, tetapi bernilai besar bila dimanfaatkan sesuai dengan firman Q.S. Az-Zalzalah ayat 7:

فَمَنْ يَعْمَلْ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ خَيْرًا يَرَهُ

Artinya: *Barangsiapa yang mengerjakan kebaikan seberat Dzarrahpun, niscaya dia akan melihat (balasan)nya.*

Berdasarkan tafsir al Maraghi (1992) “dzarah” diartikan sebagai sesuatu yang sangat kecil bahkan tidak dilihat oleh mata. Hal tersebut dapat dikiasikan pada senyawa berberin dalam tanaman anting-anting. Pemanfaatan tanaman diperkuat dengan firman Allah Q.S. An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّحِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّعَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: *Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.*

Berdasarkan ayat tersebut disiratkan untuk berfikir memanfaatkan tanaman yang dihidupkan dari tanah bersama dengan air hujan. Kedua ayat tersebut menjelaskan bahwa tiada ciptaan Allah SWT yang tidak dapat bermanfaat bagi makhluk yang lainnya, seperti halnya senyawa berberin dalam tanaman anting-anting. Selain itu, Allah memerintahkan kepada manusia untuk terus menggali akan kekuasaan-Nya bahkan sampai zat yang terkecilpun.

Tanaman anting-anting merupakan gulma yang dapat dijumpai di pinggir jalan ataupun perkebunan yang berpeluang ditingkatkan nilai gunanya karena keberadaannya yang melimpah. Tanaman anting-anting bermanfaat untuk mengobati pneumonia, bronkitis, tuberkolosis pulmonari (Ishak, 2013), kudis, diuretik, arthritis (Ashwini dan Asha, 2017). Tanaman anting-anting mengandung antioksidan, efek anti-inflamator, anti-aktivitas estrogenik, dan anti-implantasi (Ashwini dan Asha, 2017). Manfaat tanaman anting-anting sebagai obat berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Senyawa metabolit sekunder dalam tanaman anting-anting adalah steroid, triterpenoid, flavonoid (Hayati dan Halimah, 2010), tanin, alkaloid (Hayati, dkk., 2012), dan fenolik (Godipurge, dkk., 2015). Salah satu golongan alkaloid yang bersifat farmakologis adalah alkaloid isokuinolin. Alkaloid isokuinolin memiliki beberapa macam, salah satunya adalah berberin. Berberin memiliki sifat farmakologis terhadap diare, hipertensi, hiperlipidemia, hipertensi, kanker, sindrom metabolik, dan diabetes (Mohan, dkk., 2017). Keberadaan berberin dalam tanaman anting-anting dibuktikan dengan penelitian Husna (2011). Penelitian tersebut menggunakan LC-MS, dihasilkan spektra ekstrak etil asetat tanaman anting-anting dengan puncak m/z 321,2 yang membuktikan keberadaan senyawa berberin.

Pemisahan senyawa berberin dapat dilakukan dengan ekstraksi ultrasonik. Keuntungan utama ekstraksi ultrasonik antara lain efisiensi besar, waktu operasi lebih singkat, laju perpindahan massa lebih singkat (Garcia dan Castro, 2004). Penelitian yang dilakukan Safitri (2018), senyawa alkaloid tanaman anting-anting diekstrak dengan metode ekstraksi ultrasonik menggunakan variasi pelarut etanol, metanol, dan etil asetat. Hasil terbaik diperoleh dari ekstrak etil asetat dengan ekstraksi ultrasonik selama 20 menit. Penggunaan etil asetat sebagai pelarut ekstraksi didukung dari penelitian sebelumnya yang melakukan fraksinasi tanaman anting-anting dan diperoleh waktu retensi sekitar 2,518 menit dengan kadar senyawa berberin sebesar 11,8203 $\mu\text{g/mL}$ (Rahmawan, 2018). Keuntungan lain penggunaan pelarut etil asetat adalah etil asetat memiliki toksisitas rendah (Rosyidah, 2016).

Salah satu metode analisis ekstrak berberin tanaman anting-anting adalah menggunakan instrumen KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Pemisahan suatu senyawa menggunakan KCKT mulai diminati karena metode yang digunakan lebih sederhana, skala kecil, serta kemajuan di bidang ekstraksi dan *clean up*. KCKT merupakan metode yang digunakan untuk penentuan analisis baik kualitatif maupun kuantitatif (Nurhamidah, 2005). Melalui analisis kualitatif didapatkan waktu retensi senyawa target dalam sampel yang dibandingkan dengan waktu retensi standar senyawa target, sedangkan analisis kuantitatif dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa target dalam sampel (Pfoze dkk., 2014).

Optimasi pemisahan sampel diperlukan sebelum dilakukan identifikasi. Rahmawan (2018) melakukan optimasi pemisahan senyawa berberin ekstrak etanol fraksi etil asetat tanaman anting-anting dengan KCKT sistem isokratik.

Penelitian tersebut menghasilkan kondisi optimum penggunaan fasa gerak metanol : buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan laju alir 1 mL/min pada panjang gelombang 345 nm dengan kadar senyawa berberin sebesar 11,82030 $\mu\text{g/mL}$. Sistem isokratik yang dilakukan kurang memberikan hasil yang maksimal karena terdapat tumpukan pada puncak yang diduga senyawa berberin, sehingga untuk memaksimalkan keberhasilan pada penelitian ini digunakan sistem gradien. Keuntungan sistem gradien adalah total waktu analisis dapat direduksi, efek sensitivitas bertambah (Putra, 2004), kapasitas puncak bertambah (Schellinger dan Carr, 2006), dapat memisahkan beberapa komponen senyawa kimia dengan sifat kepolaran yang berbeda (Feng, dkk., 2014), resolusi pemisahannya lebih baik (Ariani, dkk., 2015).

Penelitian tentang optimasi KCKT dengan sistem gradien menunjukkan bahwa senyawa berberin dapat dipisahkan dengan fase gerak metanol : buffer TFA (0,1%). Laju alir yang digunakan sebesar 1 mL/min dan menghasilkan waktu retensi sekitar 7,890 menit. Hasil yang diperoleh dalam pemisahan formula polih herbal tersebut adalah dengan tahapan elusi yaitu, 0-6 menit dengan 100% buffer TFA, 7-11 menit dengan 50% buffer TFA, 12-14 menit dengan 12% buffer TFA, 15-18 menit dengan 100% buffer TFA dengan gelombang deteksi 288 nm (Gondaliya, dkk., 2014). Syarifah (2017) dalam penelitiannya menggunakan fase gerak asetronitril : air (0,1% asam format) yang menghasilkan waktu retensi sekitar 20,50 menit. Tahapan elusi untuk memisahkan senyawa target dalam *Tinospora cripa Miers* yaitu 0-5 menit dengan 5-10% ACN, 5-30 menit dengan 10-60% ACN, 30-55 menit dengan 60-95% ACN. Panjang gelombang yang digunakan dalam penelitian tersebut sebesar 254 nm. Penggunaan elusi gradien juga

dilakukan (Singh, dkk., 2010), dalam penelitian *Berberis aristata* DC. tersebut digunakan fase gerak asetone nitril : buffer yang menghasilkan waktu retensi sekitar 15,147 menit.

Berdasarkan pemaparan di atas, maka dilakukan penelitian pemisahan senyawa berberin dalam ekstrak ultrasonik etil asetat tanaman anting-anting menggunakan KCKT guna menentukan keberadaan dan kadar senyawa berberin di dalam sampel. Pemisahan dilakukan menggunakan sistem elusi gradien. Fase gerak yang digunakan berdasarkan hasil optimum dari beberapa penelitian, yakni metanol : asam format (0,1%) dan asetone nitril : asam format (0,1%).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian yang dilakukan adalah

1. Bagaimana hasil terbaik optimasi fase gerak dan sistem elusi pemisahan senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan KCKT sistem elusi gradien ?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa berberin menggunakan metode adisi dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting dengan KCKT ?
3. Berapa kadar berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah

1. Mengetahui hasil terbaik optimasi fase gerak dan sistem elusi pemisahan senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan sistem elusi gradien.

2. Mengetahui hasil identifikasi senyawa berberin menggunakan metode adisi dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting.
3. Mengetahui kadar berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan adalah

1. Meningkatkan daya guna tanaman anting-anting.
2. Memberi informasi kepada masyarakat mengenai senyawa berberin dalam tanaman anting-anting.
3. Memberikan informasi penggunaan metode ekstraksi ultrasonik dapat digunakan untuk analisis menggunakan KCKT tanpa merusak senyawa.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian yang dilakukan adalah

1. Tanaman anting-anting diperoleh dari Desa Purwodadi Kecamatan Ringinrejo Kabupaten Kediri.
2. Bagian tanaman yang digunakan adalah batang dan daun.
3. Berberin diperoleh dari ekstrak ultrasonik etil asetat tanaman anting-anting.
4. Ekstraksi ultrasonik dilakukan selama 20 menit dengan frekuensi 42 KHz.
5. Sistem elusi yang digunakan adalah sistem elusi gradien.
6. Eluen yang digunakan adalah asam format (0,1%) : metanol dan asam format (0,1%) : asetonitril.
7. Variasi sistem waktu (menit) yang digunakan adalah sebagai berikut
 1. 0 – 6; 7 – 11; 12 – 14; 15 – 20

2. 0 – 10; 10 – 20; 20 – 25; 25 – 26; 26 – 30

3. 0 – 5; 5 – 30; 30 – 55; 55 – 60

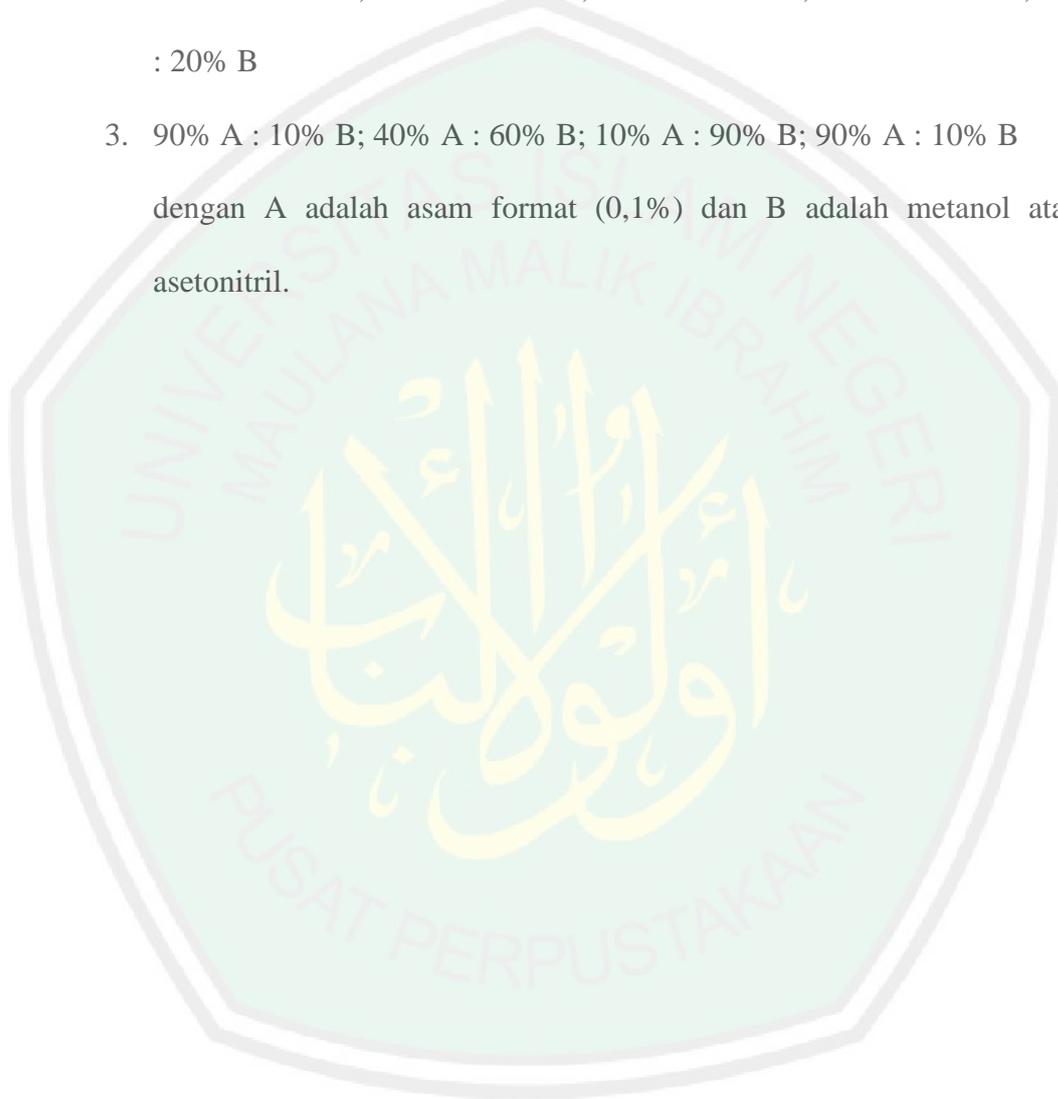
8. Variasi sitem elusi yang digunakan adalah sebagai berikut

1. 100% A : 0% B; 50% A : 50% B; 12% A : 88% B; 100% A : 0% B

2. 80% A : 20% B; 50% A : 50% A; 50% A : 50% B; 80% A : 20% B; 80% A : 20% B

3. 90% A : 10% B; 40% A : 60% B; 10% A : 90% B; 90% A : 10% B

dengan A adalah asam format (0,1%) dan B adalah metanol ataupun asetonitril.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anting-Anting

Tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di beberapa negara kawasan Asia Tenggara, seperti Indonesia, Malaysia, Brunei Darussalam, Thailand dan beberapa negara yang lain. Tanaman anting-anting adalah tanaman liar yang hidup di daerah tropis dengan iklim lembab (Yasmin, dkk., 2010). Tanaman anting-anting merupakan tanaman herbal tahunan yang memiliki batang bertrikoma, daunnya tunggal, bertangkai panjang, bentuk daunnya oval hingga belah ketupat, tepi daun beringgit hingga bergigi, unisek, dan memiliki braktea. Bunga betina memiliki postur yang lebih pendek dibandingkan bunga jantan. Memiliki buah yang kecil, seperti kapsul, dikelilingi braktea, bijinya oval, halus, serta berwarna coklat muda (Pambudi, dkk., 2014).



Gambar 2.1 Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) (Pambudi, dkk., 2014)

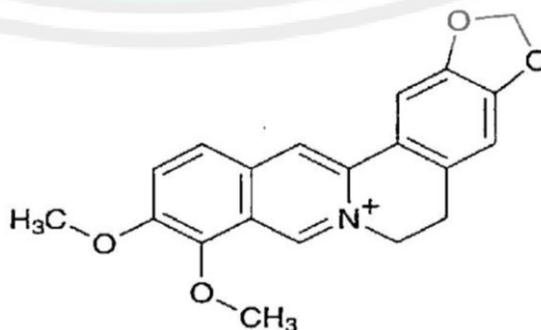
Tanaman anting-anting mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Hutapea, 1993)

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdiviso	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida / Dicotyledoneae (berkeping dua / dikotil)
Sub-kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Acalypha indica</i> Linn.
Sinonim	: <i>A. Spicata.</i> , <i>A. Canescens</i> Wall., <i>A. Australis</i> Linn.

Tanaman anting-anting merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan untuk obat tradisional. Tanaman anting-anting bermanfaat untuk mengobati pneumonia, bronkitis, tuberkolosis pulmonari (Ishak, 2013), kudis, diuretik, arthritis (Ashwini dan Asha, 2017). Tanaman anting-anting mengandung antioksidan, efek anti-inflamator, anti-aktivitas estrogenik, dan anti-implantasi (Ashwini dan Asha, 2017). Manfaat tanaman anting-anting sebagai obat berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Senyawa metabolit sekunder dalam tanaman anting-anting adalah steroid, triterpenoid, flavonoid (Hayati dan Halimah, 2010), tanin, alkaloid (Hayati, dkk., 2012), dan fenolik (Godipurge, dkk., 2015). Adanya senyawa alkaloid dalam tanaman anting-anting diperkuat dengan pengujian KLT yang menunjukkan noda warna jingga kecoklatan yang mengasumsikan senyawa alkaloid (Hayati dan Halimah, 2010).

2.2 Senyawa Berberin

Senyawa berberin merupakan salah satu golongan senyawa alkaloid isokuinolin. Alkaloid isokuinolin adalah senyawa terbesar dalam alkaloid yang memiliki kerangka dasar dari beberapa tipe alkaloid (Grycova, dkk., 2007). Berberin adalah salah satu senyawa yang dimanfaatkan untuk bahan obat tradisional. Senyawa yang memiliki warna kuning terang tersebut memiliki aktivitas farmokologi seperti antioksidan, antihipertensi, antiinflamasi, antidepresan, antikanker, antidiare, hepatoprotektif, dan hipolipidemia. Berberin mudah ditemukan dalam tanaman dengan jumlah yang signifikan (Singh, dkk., 2010). Berberin biasa ditemukan di daun, batang, akar, dan rimpang yang memiliki berat molekul sebesar 336 g/mol (Ningrum, dkk., 2017). Pambudi, dkk (2014) melakukan penelitian tentang kandungan antioksidan dalam tanaman anting-anting. Hasil KLT menunjukkan bahwa pada bagian daun, batang, dan akar mengandung senyawa yang berbeda dan kandungan antioksidan paling banyak berada pada bagian daun dan batang. Berdasarkan *Material Safety Data Sheet* tahun 2006, senyawa berberin berbentuk serbuk berwarna kuning, memiliki titik didih sebesar 145° C, dan larut dalam air dingin. Struktur senyawa berberin tertera pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Senyawa Berberin (Shigwan, dkk., 2013)

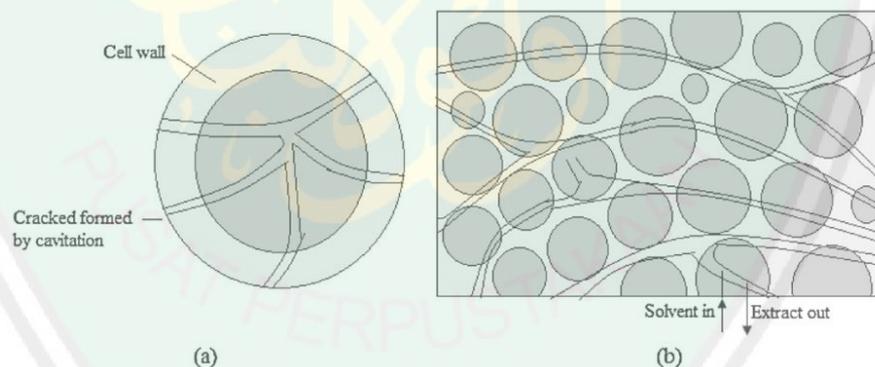
Adanya berberin dalam tanaman anting-anting telah dibuktikan oleh penelitian sebelumnya. Husna (2011) mengidentifikasi berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan LC-MS yang menghasilkan puncak dengan m/z 321,2 pada waktu retensi sekitar 29,388 menit. Penelitian tersebut diperkuat oleh Lisiyana (2016) yang mengidentifikasi isolat ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan kromatografi kolom. Hasil analisis menggunakan LC-MS menghasilkan puncak serapan m/z sebesar 323. Mohan, dkk (2017) menyebutkan bahwa standar berberin memiliki berat molekul sebesar 336,1240 g/mol berdasarkan hasil puncak serapan m/z .

Identifikasi kadar senyawa berberin dalam tanaman anting-anting dilakukan oleh Rosyidah (2016) menggunakan UPLC-MS. Penelitian tersebut menghasilkan serapan m/z sebesar 321 dengan waktu retensi sekitar 15,76 menit. Kadar berberin yang dihasilkan sebesar 30,17%. Rahmawan (2018) melakukan penelitian yang serupa dengan menggunakan KCKT dan diperoleh kadar berberin dalam ekstrak etanol fraksi etil asetat tanaman anting-anting sebesar 11,82030 $\mu\text{g/mL}$ dengan waktu retensi sekitar 2,518 menit.

2.3 Ekstraksi Ultrasonik menggunakan Etil Asetat

Ekstraksi ultrasonik merupakan metode pemisahan yang memanfaatkan gelombang ultrasonik yang merambat melalui medium untuk mendapatkan senyawa organik. Air dapat menjadi medium perambatan ultrasonik. Gelombang ultrasonik yang diberikan mampu meningkatkan reaksi kimia akibat terbentuknya ion dan partikel yang teraktivasi. Ultrason dengan frekuensi 20-500 kHz dapat memberikan pengaruh fisik, mekanik, dan kimia (biokimia) terhadap bahan

(Jambrak, 2012). Ekstraksi ultrasonik didasarkan pada fenomena kavitasi, efek mekanis, dan termal. Fenomena kavitasi merupakan proses pecahnya gelembung pada fluida karena penurunan tekanan secara tiba-tiba pada suhu konstan. Pecahnya gelembung kavitasi mengakibatkan kerusakan bahan yang diikuti dengan peningkatan penetrasi pelarut ke dalam matriks bahan dan intensifikasi perpindahan massa. Gambaran tentang fenomena kavitasi tertera pada Gambar 2.3. Efek mekanis melibatkan proses difusi melalui dinding sel bahan dan proses pencucian isi sel setelah dinding sel rusak (Khan, dkk., 2010). Ultrasonikasi mampu meningkatkan ekstraksi komponen-komponen senyawa seperti polifenol, anthosianin, polisakarida, senyawa aromatik, dan minyak. Penggunaan ekstraksi ultrasonik dapat menghemat ekstraksi bahan baku yang mahal (Shirsath, dkk., 2012).



Gambar 2.3 Mekanisme Gangguan Dinding Sel (a) pecahnya dinding sel akibat efek kavitasi (b) difusi pelarut ke dalam struktur sel (Shirsath, dkk., 2012)

Ekstraksi ultrasonik merupakan teknik ekstraksi nonkonvensional yang memiliki beberapa kelebihan. Penggunaan ekstraksi ultrasonik dapat meminimalkan penggunaan pelarut, lebih cepat dalam proses ekstraksi, menjaga

kualitas bahan, dan meningkatkan ekstraksi komponen suatu bahan (Jambrak, 2012). Keuntungan lain menggunakan ekstraksi ultrasonik adalah dapat meningkatkan rendemen (Hartuti dan Supardan, 2013) dan dapat menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik (Sayuti, 2017). Penelitian terbaru menghasilkan kadar senyawa alkaloid dalam tanaman anting-anting ekstrak hasil ultrasonik sebesar 0,274 mg/g (Qoriati, 2018).

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi harus memperhatikan kelarutan dari senyawa yang diinginkan karena berpengaruh terhadap keefektifan hasil yang diperoleh. Pelarut yang umum digunakan dalam melarutkan senyawa-senyawa aktif bahan alam adalah pelarut-pelarut golongan alkohol (Lenny, 2006). Salah satu pelarut yang digunakan adalah etil asetat. Etil asetat dengan rumus molekul $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ merupakan bahan yang tidak berwarna, berbau menyengat, larut dalam kloroform, alkohol dan eter, dan sedikit larut dalam air. Titik didih etil asetat sebesar 77 °C dengan densitas sebesar 0,9 g/mL (Arsyad, 2001).

Penggunaan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen sebesar 14,9% dengan ekstraksi maserasi tanaman anting-anting. Sampel kering yang digunakan sebanyak 30 gram dengan pelaut sebanyak 150 mL dan menghasilkan ekstrak pekat sebesar 4,47 gram (Hayati, dkk., 2012). Husna (2011) di dalam penelitiannya menghasilkan ekstrak pekat etil asetat sebesar 3,0328 gram. (Rosyidah, 2016) menyebutkan bahwa ekstrak tanaman anting-anting bersifat semi polar sehingga dalam penetapan kadar senyawa terlarut dalam air dan etanol menghasilkan rendemen terbaik pada pelarut etanol. Hal tersebut dikarenakan senyawa dalam tanaman anting-anting bersifat semipolar yang diekstrak dengan etil asetat yang memiliki sifat kepolaran hampir sama dengan etanol. Senyawa

larut dalam etanol sebanyak $79,6216\% \pm 1,902$. Penetapan tersebut bertujuan untuk mengetahui banyak senyawa yang bersifat polar dan semipolar.

Penggunaan pelarut etil asetat dalam ekstraksi senyawa aktif alkaloid menunjukkan hasil yang baik. Ekstrak kasar etanol 80% yang difraksinasi dengan pelarut etil asetat menghasilkan nilai rendemen sebesar 33,813%. Melalui uji kualitatif menggunakan reagen dragnedroff menunjukkan hasil positif terhadap keberadaan senyawa alkaloid di dalam ekstrak sampel (Fadhilah, 2016). Penelitian yang dilakukan Safitri (2018) diperoleh hasil terbaik senyawa alkaloid ekstrak etil asetat tanaman anting-anting dengan rendemen sebesar 9,442%.

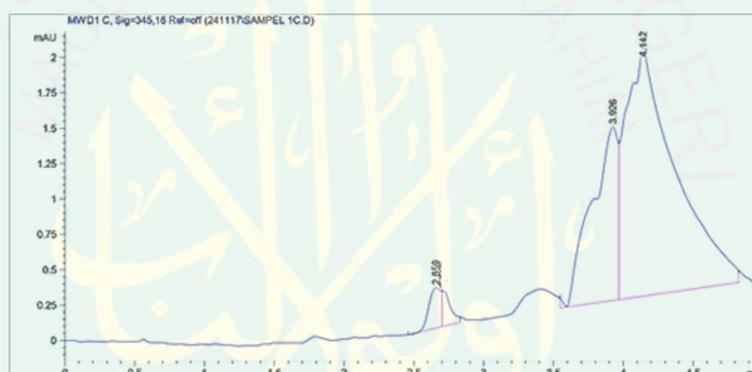
2.4 Optimasi Senyawa Berberin menggunakan KCKT

Metode KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) merupakan teknik kromatografi cair kinerja tinggi yang berasal dari kromatografi kolom klasik, teknik kromatografi ini bertambah maju setelah KCKT dikemas dengan *bead* yang sangat kecil dan beroperasi pada tekanan tinggi. KCKT merupakan suatu metode yang sensitif dan akurat untuk penentuan kuantitatif maupun kualitatif. Pemisahan dengan KCKT mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode konvensional seperti waktu analisis yang cepat, biaya yang rendah dan kemungkinan untuk menganalisis sampel yang tidak stabil (Nurhamidah, 2005).

Teknik KCKT dibedakan atas fase normal (menggunakan pelarut nonpolar sebagai fase gerak), fase terbalik (menggunakan pelarut polar sebagai fase gerak), dan penukar ion (menggunakan gradien konsentrasi ion dalam fase geraknya). KCKT mempunyai kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif. Kelebihan lain dari penggunaan KCKT adalah

dapat digunakan memisahkan senyawa yang tidak mudah menguap, resolusi yang dihasilkan lebih baik, kecepatan analisis dan kepekaan tinggi, dan dapat digunakan bermacam-macam detektor (Putra, 2004).

Sistem dasar KCKT terdiri dari wadah fase gerak, pompa, injektor, kolom, dan detektor. Pompa berfungsi menarik fase gerak dan memompanya menuju ke kolom. Pada bagian depan kolom dihubungkan dengan injektor yang berfungsi sebagai tempat memasukkan sampel ke sistem. Pada aliran keluar terdapat detektor yang mendeteksi komponen sampel dan menghasilkan sinyal yang ditampilkan sebagai sebuah puncak pada bagian recorder (Putra, 2004).



Gambar 2.4 Kromatogram Berberin menggunakan KCKT Sistem Isokratik

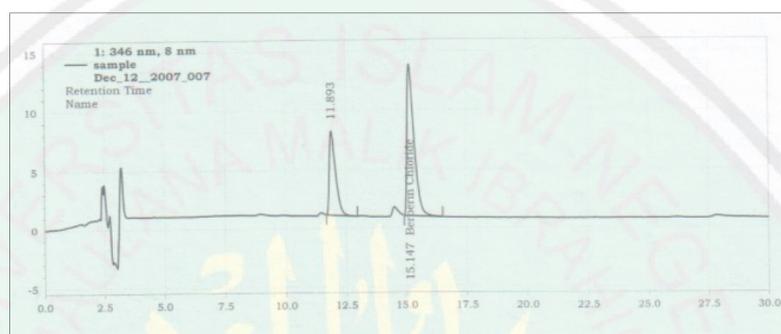
Gambar 2.4 merupakan kromatogram berberin ekstrak etanol fraksi etil asetat yang dihasilkan dari penelitian yang dilakukan oleh Rahmawan (2018) tentang optimasi pemisahan berberin dalam ekstrak etanol fraksi etil asetat tanaman anting-anting menggunakan KCKT dengan sistem isokratik. Eluen yang digunakan adalah metanol : buffer TFA (0,1%) (50:50 v/v) dengan laju alir 1,0 mL/min. Hasil yang diperoleh menunjukkan senyawa berberin dalam fraksi etil asetat tanaman anting-anting berada pada waktu retensi sekitar 2,518 menit dengan kadar sebesar 11,8203 $\mu\text{g/mL}$.

Penelitian tentang optimasi pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT telah banyak dilakukan. Variasi yang digunakan antara lain, variasi fase gerak, elusi yang digunakan, dan laju alir. Hasil dan kondisi pemisahan dari beberapa penelitian mengenai optimasi senyawa berberin menggunakan KCKT ditampilkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hasil dan Kondisi Pemisahan Berberin Menggunakan KCKT

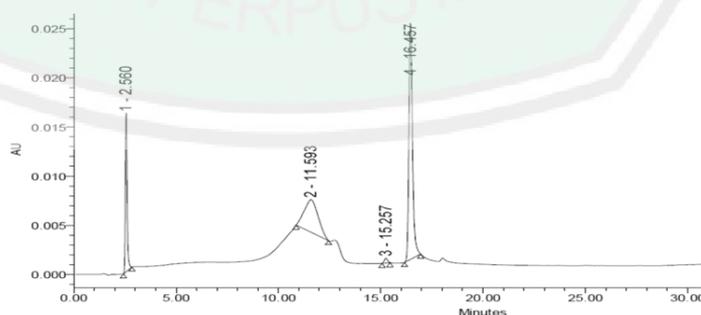
Sumber Pustaka	Sampel	Fase Gerak & Jenis Elusi	Laju Alir (mL/min)	Waktu Retensi (menit)	Jenis dan Panjang Kolom
Pfoze, dkk., 2014	<i>Mahonia manipurensis</i>	Metanol:air (asam format 0,1%), gradien	1,0	16,457	Kolom C18 (5 μ m, 250 mm x 4,6 mm)
Feng, dkk., 2014	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	Asetonitril:air, gradien	1,0	30,20	Kolom C18 (5 μ m, 40 mm x 4,6 mm)
(Singh, dkk., 2010)	<i>Berberis aristata</i> DC.	Asetonitril:buffer, gradient	1,0	15,147	Kolom C18 (5 μ m, 250 mm x 4,6 mm)
Mohan, dkk., 2017	<i>Tinospora cordifolia</i>	Metanol:air (0,1% as. Format), gradien	1,5	31,477	Kolom C18 (5 μ m, 250 mm x 4,6 mm)
Syarifah, 2017	<i>Tinospora crispa</i> Miers.	Asetonitril:air (0,1% as. Format), gradien	1,0	20,50	Kolom C18 (4,6 μ m, 150 mm x 4,6 mm)
Gondaliya, dkk., 2014	Formula Polihebal	Air (TFA 0,1%): metanol, gradien	1,0	7,890	Kolom C18 (5 μ m, 10 x 4,6 mm)
Schramm, dkk., 2011	<i>Coptidis Rhizoma</i>	Metanol:TFA 0,025%, gradien	1,0	23	Kolom C18 (5 μ m, 30 x 150 mm)

Penelitian tentang senyawa berberin dengan elusi gradien menggunakan metode KCKT dilakukan oleh Singh, dkk di tahun 2006. Penelitian tersebut menggunakan ekstrak sampel *Berberis aristata* DC. dengan waktu retensi sekitar 15,147 menit. Singh, dkk (2010) memperoleh puncak senyawa berberin dengan bentuk tidak lebar dan lancip. Kromatogram yang diperoleh tercantum pada Gambar 2.5.



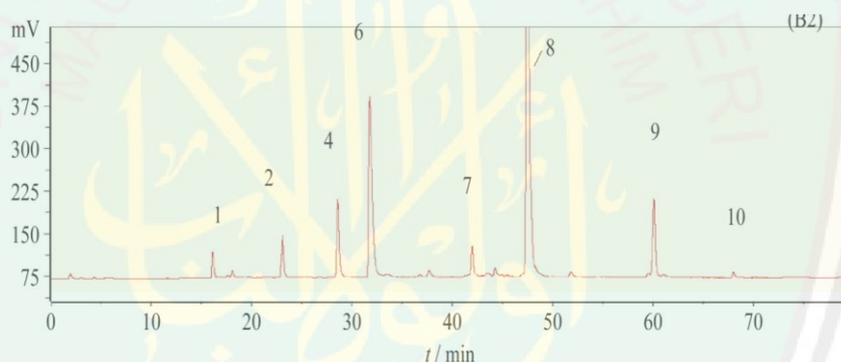
Gambar 2.5 Kromatogram Berberin dari *Berberis aristata* DC dengan Laju Alir 1.0 mL/min (Singh, dkk., 2010)

Penelitian yang dilakukan Pfoze, dkk (2014) mengenai penentuan senyawa berberin pada *Mahonia manipurensis* menggunakan fase gerak metanol : air (asam format 0,1%). Kromatogram yang diperoleh menghasilkan waktu retensi sekitar 16,457 menit dengan bentuk puncak pada Gambar 2.6.



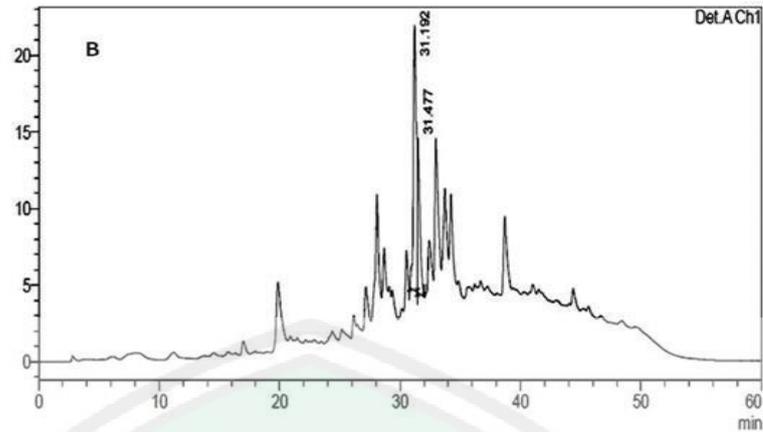
Gambar 2.6 Kromatogram Berberin dari *Mahonia manipurensis* dengan Laju Alir 1.0 mL/min (Pfoze, dkk., 2014)

Feng, dkk (2014) memperoleh kromatogram yang memperlihatkan senyawa berberin pada waktu retensi sekitar 30,20 menit yang ditunjukkan pada puncak nomor 6. Sampel yang digunakan adalah *Anemarrhena asphodeloides* dengan menggunakan fase gerak asetonitril : air. Laju alir yang digunakan sebesar 1,0 mL/min dengan sistem elusi yaitu 0-30 menit dengan 2%-20% asetonitril; 30-35 menit dengan 20%-22% asetonitril; 35-40 menit dengan 22%-26% asetonitril; 40-60 menit dengan 26%-35% asetonitril; 60-75 menit dengan 35%-55% asetonitril; 75-85 menit dengan 55%-95% asetonitril. Kromatogram yang dihasilkan tertera pada Gambar 2.7.



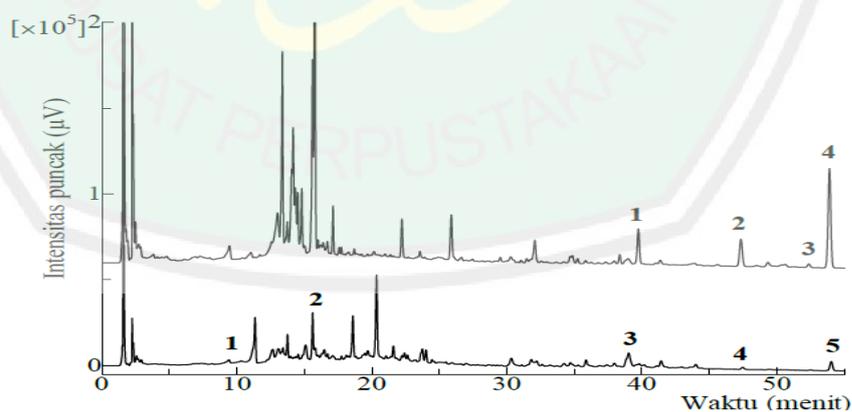
Gambar 2.7 Kromatogram Berberin dari *Anemarrhena asphodeloides* dengan Laju Alir 1.0 mL/min (Feng, dkk., 2014)

Penelitian yang dilakukan oleh Mohan, dkk (2017) tentang identifikasi senyawa alkaloid berberin pada *Tinospora cordifolia* dan menghasilkan waktu retensi sekitar 31,477 menit. Fase gerak yang digunakan adalah metanol : air (0,1% asam format) dengan puncak berbentuk lancip. Kromatogram yang dihasilkan tertera pada Gambar 2.8.

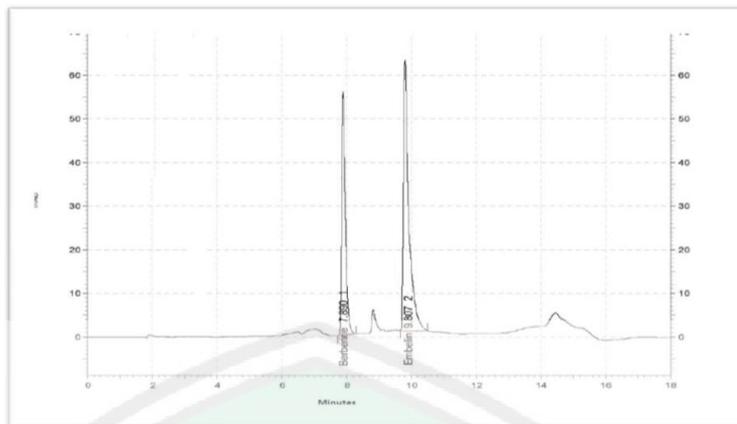


Gambar 2.8 Kromatogram Berberin dari *Tinospora cordifolia* dengan Laju Alir 1.0 mL/min (Mohan, dkk., 2017)

Syarifah pada tahun yang sama mengidentifikasi senyawa alkaloid berberin dalam tanaman *Tinospora crispa* Miers dengan fase gerak asetonitril : air (0,1% asam format) dan menghasilkan waktu retensi sekitar 20,50 menit. Penelitian tersebut membandingkan intensitas senyawa berberin pada daun dan batang *Tinospora crispa* Miers. Puncak yang dihasilkan dalam kromatogram berbentuk lancip seperti yang dinyatakan dalam Gambar 2.9.

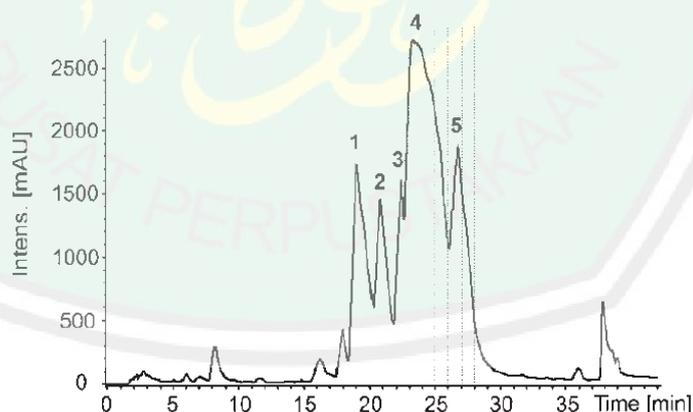


Gambar 2.9 Kromatogram Berberin dari *Tinospora crispa* Miers. dengan Laju Alir 1.0 mL/min (Syarifah, 2017)



Gambar 2.10 Kromatogram Berberin dari Formula Polih herbal dengan Laju Alir 1.0 mL/min (Gondaliya, dkk., 2014)

Gambar 2.10 memperlihatkan hasil dari penelitian (Gondaliya dkk., 2014) yang menggunakan metanol dan buffer TFA sebagai fase gerak. Tahapan elusi yang digunakan yaitu 0-6 menit dengan 100% buffer TFA, 7-11 menit dengan 50% buffer TFA, 12-14 menit dengan 12% buffer TFA, 15-18 menit dengan 100% buffer TFA. Berberin berada pada waktu retensi sekitar 7,890 menit dengan laju alir 1.0 mL/min.



Gambar 2.11 Kromatogram Berberin dari *Coptidis rhizoma* dengan Laju Alir 1.0 mL/min (Schramm, dkk., 2011)

Schramm, dkk (2011) menghasilkan data kromatogram yang ditunjukkan pada Gambar 2.11. Berberin ditunjukkan pada puncak nomor 4 dengan waktu

retensi sekitar 23 menit. Fase gerak yang digunakan adalah metanol:TFA 0,025% dengan tahapan elusi 0-3 menit dengan 70% TFA; 3-18 menit dengan 45% TFA; 18-19 menit 20% TFA; dan 19-23 menit dengan 0% TFA.

Beberapa penelitian di atas menunjukkan adanya pengaruh penggunaan fase gerak terhadap hasil pemisahan menggunakan KCKT. Fase gerak terdiri dari campuran pelarut yang dapat terlarut sempurna yang berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi dipengaruhi oleh polaritas fase gerak, polaritas fase diam, dan sifat senyawa yang dipisahkan. Seperti yang ditunjukkan dalam beberapa penelitian, fase gerak yang sering digunakan antara lain asetonitril, air (buffer TFA), dan metanol. Buffer berfungsi sebagai penjaga stabilitas pH eluen dan mencegah proses ionisasi dari solut, apabila solut mengalami ionisasi maka menyebabkan ikatan dengan fase diam menjadi lebih lemah dibandingkan pada kondisi solut tidak terionisasi maka akan terelusi lebih cepat (Gandjar dan Rohman, 2007).

Beberapa penelitian menggunakan metanol sebagai campuran eluen (fase gerak). Metanol dapat menerima dan memberikan ikatan hidrogen yang mengakibatkan terjadinya interaksi yang lebih kuat dengan tambahan fase gerak air. Interaksi metanol pada aliran fluida yang melalui kolom KCKT mengakibatkan tekanan balik yang lebih tinggi (Aburjai, 2011).

2.5 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan segala sesuatu beserta manfaat di dalamnya. Manusia diberikan kelebihan akal dan fikiran diperintahkan untuk menggali manfaat dan karunia ciptaan-ciptaan Allah, termasuk tumbuh-tumbuhan.

Penciptaan macam-macam tanaman dijelaskan secara tersirat pada Q.S.

Al-Anam ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: *Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang tersusun; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.*

Tanaman anting-anting termasuk segala macam tumbuhan yang di dalamnya terkandung banyak manfaat. Diantara beberapa manfaatnya sebagai antidiabetes dan antimalaria.

Tafsir Ibnu Katsir karya Imam Ibnu Katsir (2004) menjelaskan bahwa penggalan ayat :

فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا

Allah tumbuhkan segala macam tumbuhan dari air hujan dari langit, kemudian diperjelas bahwa segala sesuatu Allah ciptakan pasti dengan manfaatnya masing-masing, tanpa terkecuali tanaman anting-anting. Diperkuat dengan penggalan ayat:

نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا

Menurut Imam Ibnu Katsir, *Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang tersusun, dalam artian bahwa butir yang tersusun itu terdiri dari akar,*

batang, daun, buah, bunga, dan biji. Dilihat dari penjelasan tersebut, maka tumbuhan anting-anting juga termasuk di dalamnya.

Beralih ke penjelasan berikutnya tentang pemanfaatan dari tanaman anting-anting. Allah berfirman dalam Q.S. Yasin ayat 35:

لِيَأْكُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ وَمَا عَمِلَتْهُ أَيْدِيهِمْ أَفَلَا يَشْكُرُونَ

Artinya: *Supaya mereka dapat makan dari buahnya, dan dari apa yang diusahakan oleh tangan mereka. Maka mengapakah mereka tidak bersyukur?.*

Berdasarkan tafsir Al Quran yang dijelaskan oleh Kementerian Agama RI (2010), *dari apa yang diusahakan oleh tangan mereka* mengkiaskan makna tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dan makhluk lainnya. Pengertian tersebut menjelaskan manusia diperintahkan untuk berfikir dan memanfaatkan segala macam ciptaan-Nya. Melalui kelebihan akal yang dimiliki oleh manusia, tanaman anting-anting yang termasuk tumbuhan dalam penggalan ayat di atas dapat digunakan sebagai tanaman obat. Sepertinya halnya melakukan analisis senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan KCKT sistem gradien.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian yang berjudul “Analisis Senyawa Berberin pada Ekstrak Ultrasonik Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Sistem Gradien” dilaksanakan pada bulan Maret – Juni 2019 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Bersama Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas IPB.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini seperangkat alat gelas, neraca analitik, mikro pipet, ayakan 90 mesh, oven, ultrasonikator, dan Instrument KCKT (*UFLC SPD-20A, prominence UV/Vis detector*; kolom C-18 4,6 x 250 mm, 5 μ m).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang dan daun tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) dari Kediri, akuades, standar berberin, etil asetat p.a, *aqua pro injection*, metanol KCKT *grade*, asetonitril KCKT *grade*, asam format.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan melalui uji eksperimen di laboratorium. Tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) diambil dari Kediri yang kemudian dikeringanginkan dan dihaluskan menggunakan blender. Serbuk tanaman anting-anting diayak menggunakan ayakan 90 mesh. Serbuk kasar diekstraksi ultrasonik dengan pelarut etil asetat selama 20 menit. Frekuensi ultrasonik yang digunakan sebesar 42 KHz pada suhu kamar. Hasil ekstraksi ultrasonik disaring dan filtratnya merupakan ekstrak kasar senyawa berberin tanaman anting-anting.

Larutan standar berberin dan sampel dioptimasi dengan sistem gradien pada pemisahan menggunakan KCKT. Hasil yang diperoleh digunakan untuk identifikasi senyawa berberin dalam tanaman anting-anting. Identifikasi senyawa berberin dilakukan dengan metode adisi standar, yaitu dilakukan penambahan standar berberin ke dalam sampel.

3.4 Tahap-Tahap Penelitian

Tahap-tahap dari penelitian yang dilakukan adalah

1. Preparasi sampel
2. Ekstraksi tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) menggunakan ekstraksi ultrasonik selama 20 menit dengan pelarut etil asetat
3. Optimasi pemisahan senyawa berberin menggunakan KCKT
4. Identifikasi senyawa berberin menggunakan KCKT
5. Penentuan kadar senyawa berberin

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Sebanyak 4 kg batang dan daun tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) yang diperoleh dari Kediri dicuci sampai bersih dan dipotong kecil-kecil. Selanjutnya dikeringanginkan dan dihaluskan menggunakan blender. Serbuk diayak menggunakan ayakan 90 mesh, sehingga diperoleh sampel berupa serbuk tanaman anting-anting.

3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik menggunakan Pelarut Etil Asetat (Safitri, 2018)

Ekstraksi senyawa berberin tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut etil asetat selama 20 menit. Ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan diambilnya serbuk batang dan daun masing-masing sebanyak 3 gram kemudian dicampur dan dilarutkan dalam 30 mL pelarut. Larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL dan ditutup dengan alumunium foil. Ekstraksi dilakukan dengan frekuensi 42 KHz pada suhu kamar. Hasil ekstraksi disaring dan didapatkan filtrat senyawa berberin tanaman anting-anting.

3.5.3 Optimasi Pemisahan Senyawa Berberin menggunakan KCKT

3.5.3.1 Preparasi Larutan Stok Standar Berberin

Sebanyak 0,1 mL berberin 10.000 ppm dilarutkan dalam 10 mL pelarut metanol. Konsentrasi larutan stok standar berberin tersebut sebesar 100 ppm.

3.5.3.2 Pembuatan Fase Gerak (Karthikeyan, 2014)

Sebanyak 0,5 mL asam format dimasukkan ke dalam labu takar 500 mL dan ditandabatkan menggunakan *aqua pro injection*. Larutan tersebut menghasilkan 0,1% asam format dalam *aqua pro injection* dan diultrasonikkan

selama 20 menit. Metanol diambil 500 mL dan diultrasonikkan selama 20 menit.

Asetonitril diambil 500 mL dan diultrasonikkan selama 20 menit.

3.5.3.3 Optimasi Pemisahan menggunakan KCKT (Rahmawan, 2018)

Larutan standar berberin dengan kadar 100 ppm, sampel, dan pelarut (blanko) sebanyak 20 μ L diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan sistem elusi sebagai berikut

No	Waktu (Menit)	Sistem Eluen	
		Asam Format (0,1%) : Metanol	Asam Format (0,1%) : Asetonitril
1.	0 – 6	100% : 0%	100% : 0%
	7 – 11	50% : 50%	50% : 50%
	12 – 14	12% : 88%	12% : 88%
	15 – 20	100% : 0%	100% : 0%
2.	0 – 10	80% : 20%	80% : 20%
	10 – 20	50% : 50%	50% : 50%
	20 – 25	50% : 50%	50% : 50%
	25 – 26	80% : 20%	80% : 20%
	26 – 30	80% : 20%	80% : 20%
3.	0 – 5	90% : 10%	90% : 10%
	5 – 30	40% : 60%	40% : 60%
	30 – 55	10% : 90%	10% : 90%
	55 – 60	90% : 10%	90% : 10%

Laju alir yang digunakan sebesar 1,0 mL/min dengan panjang gelombang 345 nm.

Selanjutnya dicatat waktu retensi pada tiap injeksi dengan berbagai perbandingan fase gerak kemudian diamati hasil kromatogramnya.

3.5.4 Identifikasi Senyawa Berberin menggunakan Metode Adisi (Syarifah, 2017)

Identifikasi senyawa berberin dilakukan menggunakan metode adisi standar. Ekstrak sampel sebanyak 1 mL ditambah dengan 1 mL larutan standar berberin 100 ppm. Selanjutnya larutan tersebut diinjeksikan ke dalam KCKT sebanyak 20 μ L. Injeksi sampel dilakukan sebelum dan sesudah penambahan

larutan standar berberin. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan kromatogram standar berberin dan kromatogram sampel sebelum penambahan standar.

3.5.5 Penentuan Kadar Senyawa Berberin

Penentuan kadar senyawa berberin dalam tanaman dihitung dengan rumus

$$\frac{\text{Luas area puncak standar} \times \text{Konsentrasi standar}}{\text{Luas area puncak sampel} \quad \text{Konsentrasi sampel}}$$

Dimana luas area puncak standar diperoleh dari pengukuran puncak berberin pada kromatogram adisi dikurangi dengan puncak berberin pada kromatogram sampel.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn) yang diambil dari Desa Purwodadi Kecamatan Ringinrejo Kabupaten Kediri Jawa Timur. Tahapan preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, dan penghalusan sampel. Pencucian dilakukan menggunakan air bersih dan mengalir untuk menghilangkan kotoran berupa tanah yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam sampel untuk mencegah terjadinya degradasi senyawa akibat mikroorganisme ataupun jamur, sehingga sampel dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Pengeringan dilakukan dengan cara dikeringanginkan agar tidak merusak senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel khususnya senyawa berberin. Rivai, dkk (2010) dan Luliana, dkk (2016) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa pengeringan dengan metode keringangin memberikan nilai kadar dan aktifitas metabolit sekunder yang tertinggi dibandingkan metode pengeringan lainnya.

Sampel yang sudah kering berwarna hijau tua dihaluskan menggunakan blender guna memperbesar luas permukaan. Tambun, dkk (2016) menyatakan bahwa semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya, sehingga kontak sampel dengan pelarut lebih besar yang menyebabkan proses ekstraksi berjalan lebih cepat. Sampel yang telah halus diayak untuk menyamakan ukuran dan didapatkan serbuk halus dengan berat \pm 250 gram dari pengeringan 4

kilogram sampel basah. Serbuk ini yang diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat p.a.

4.2 Ekstraksi Ultrasonik menggunakan Pelarut Etil Asetat

Metode ekstraksi senyawa berberin dalam tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Prinsip metode ekstraksi ultrasonik adalah gelombang ultrasonik merambat ke sampel yang menyebabkan tegangan mekanik, sehingga sampel pecah menjadi partikel-partikel kecil dan gelombang tersebut mengakibatkan efek kavitasi. Gelembung kavitasi memecah dinding sel sehingga terjadi difusi antara sampel dengan pelarut yang mengakibatkan senyawa metabolit sekunder dalam sel keluar dan terekstraksi. Ekstraksi ultrasonik memiliki kelebihan waktu ekstraksi yang cepat, dapat meningkatkan rendemen, dan meminimalisir penggunaan pelarut (Vankar, dkk., 2010 dan Falleh, dkk., 2012).

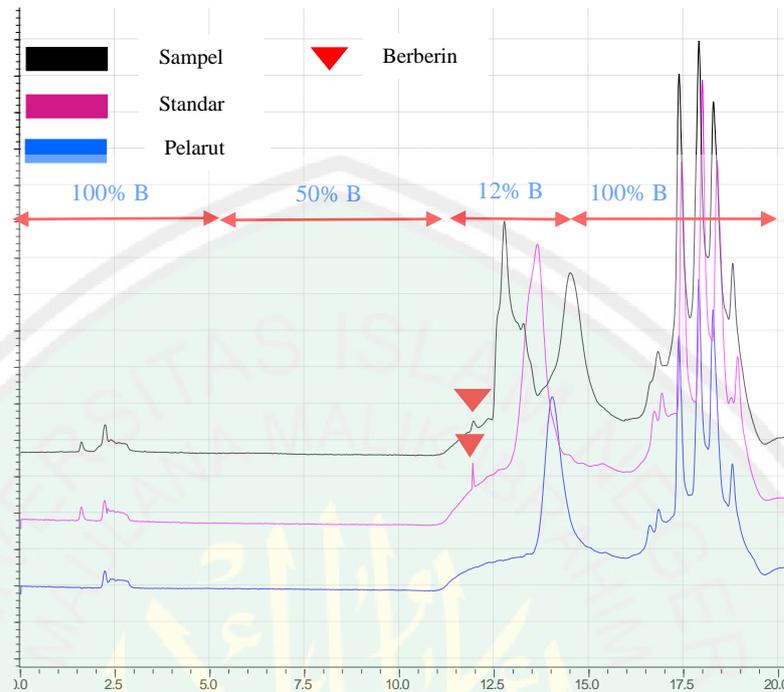
Ekstraksi senyawa berberin dilakukan dengan perbandingan berat : volume (*b/v*) yaitu 1:5 menggunakan pelarut etil asetat. Sampel diekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz pada suhu ruang. Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring dan diencerkan dengan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10 (ekstrak : metanol). Pengenceran dengan metanol bertujuan untuk mengencerkan ekstrak pekat karena ekstrak yang terlalu pekat ataupun encer dapat mempengaruhi proses pemisahan menggunakan KCKT (Vipul, dkk., 2013).

4.3 Optimasi Pemisahan Senyawa Berberin menggunakan KCKT

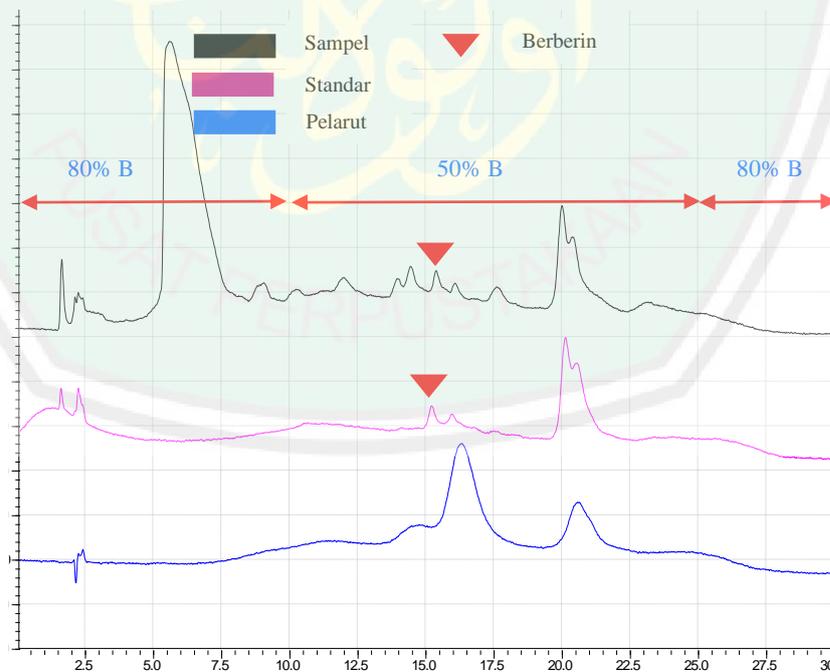
Optimasi pemisahan senyawa berberin menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dilakukan dengan menganalisis hasil kromatogram senyawa berberin pada variasi fase gerak dan sistem gradien. Sistem gradien berarti terjadi perubahan perbandingan fase gerak selama proses pemisahan. Fase gerak yang divariasikan adalah metanol : asam format (0,1%) dan asetonitril : asam format (0,1%). Penelitian ini menggunakan 3 variasi sistem gradien. Sistem gradien pertama menggunakan elusi 0-6 menit dengan 100% asam format (0,1%), elusi 7-11 menit dengan 50% asam format (0,1%), elusi 12-14 menit dengan 12% asam format (0,1%), elusi 15-20 menit dengan 100% asam format (0,1%). Sistem gradien kedua menggunakan elusi 0-10 menit dengan 80% asam format (0,1%), elusi 10-20 menit dengan 50% asam format (0,1%), elusi 20-25 menit dengan 50% asam format (0,1%), elusi 25-30 menit dengan 80% asam format (0,1%). Sedangkan sistem gradien ketiga menggunakan elusi 0-5 menit dengan 90% asam format (0,1%), elusi 5-30 menit dengan 40% asam format (0,1%), elusi 30-55 menit dengan 10% asam format (0,1%), elusi 55-60 menit dengan 90% asam format (0,1%). Asam format (0,1%) berfungsi sebagai buffer yang berpengaruh terhadap kromatogram yang dihasilkan. Penggunaan buffer dengan nilai pH < 2,5 dapat menjaga molekul kolom C-18 agar tidak mengalami deprotonasi gugus hidroksi sehingga kolom dapat digunakan dalam jangka waktu panjang (Harris, 2007).

Spesifikasi alat KCKT yang digunakan adalah tipe *UFLC SPD-20A*, *prominence UV/Vis detector*, kolom C-18 4,6 x 250 mm, 5 μ m. Penelitian yang dilakukan menggunakan metode fase terbalik karena kolom yang digunakan

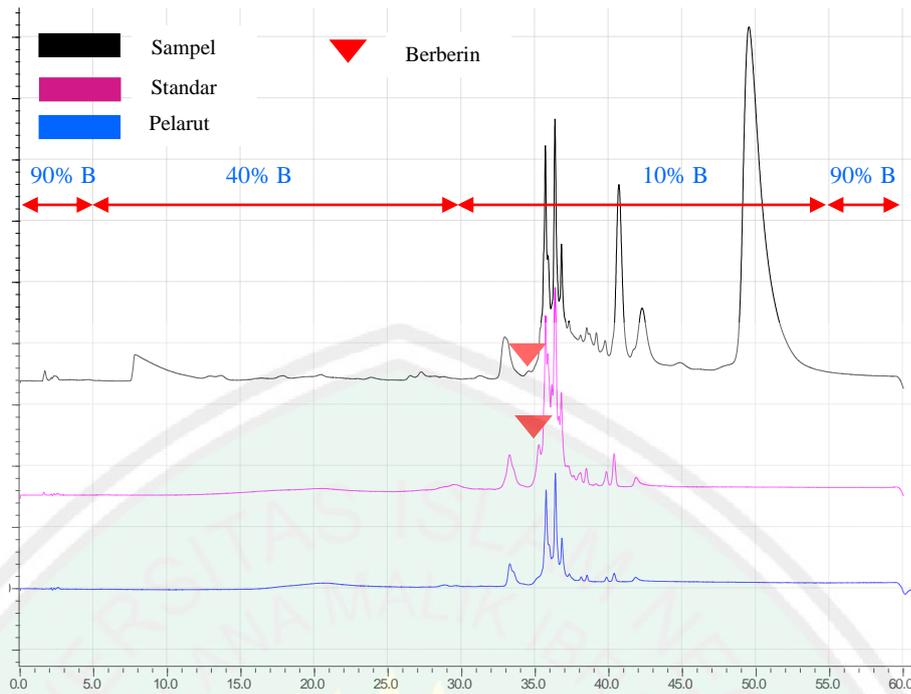
adalah C-18 yang bersifat non-polar dan fase gerak metanol, asetonitril, dan asam format 0,1% bersifat polar. Hasil optimasi ditunjukkan pada Gambar 4.1 – 4.6.



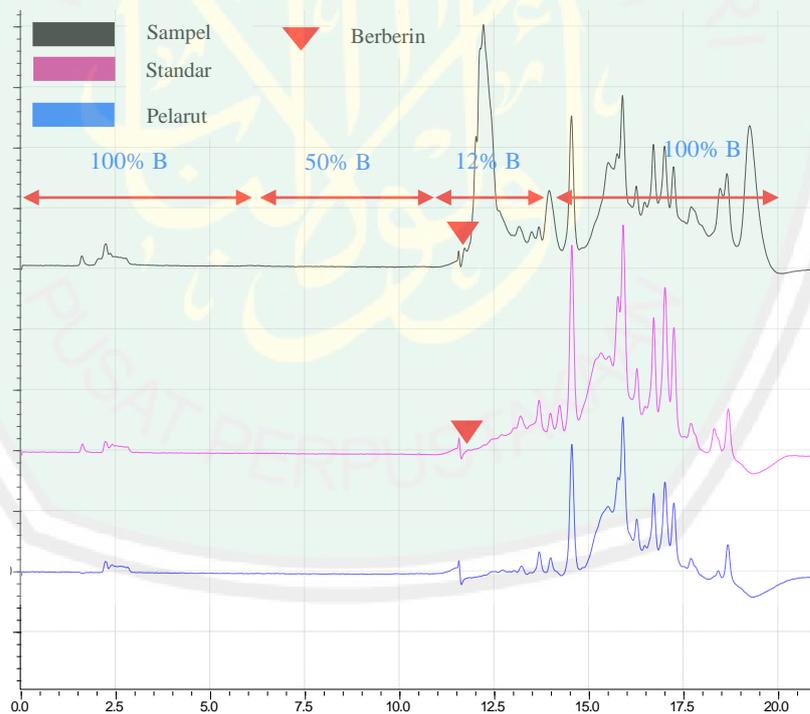
Gambar 4.1 Kromatogram berberin kondisi eluen metanol (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 1



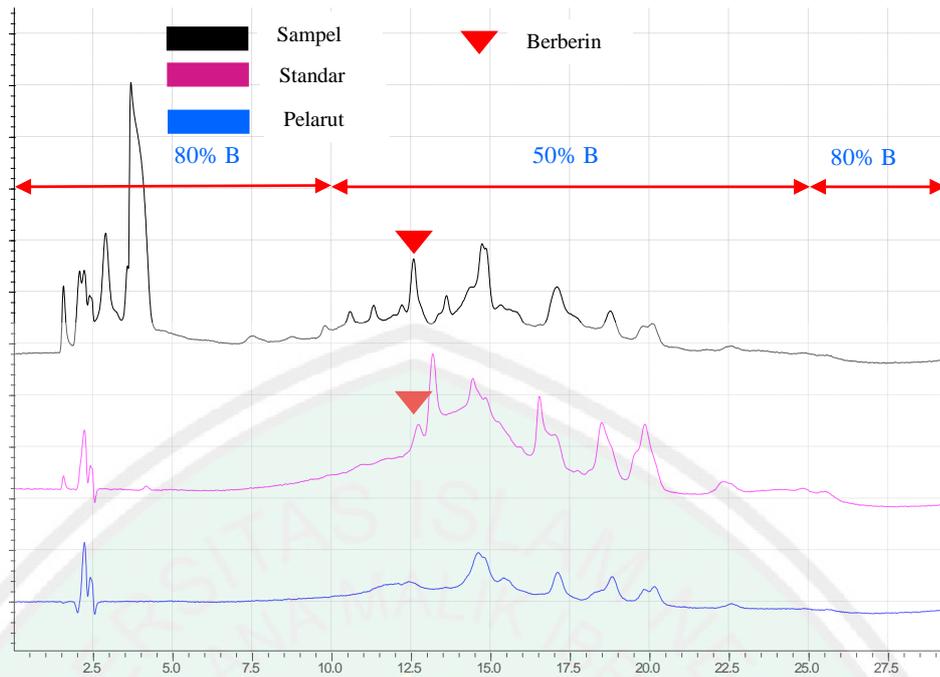
Gambar 4.2 Kromatogram berberin kondisi eluen metanol (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 2



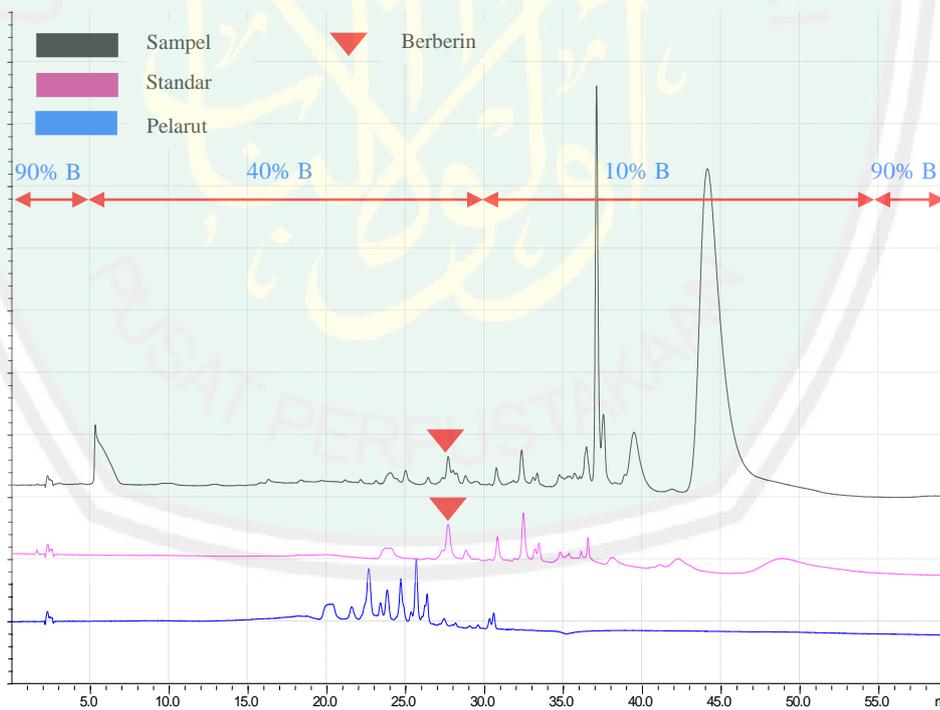
Gambar 4.3 Kromatogram berberin kondisi eluen metanol (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 3



Gambar 4.4 Kromatogram berberin kondisi eluen asetonitril (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 1



Gambar 4.5 Kromatogram berberin kondisi eluen asetonitril (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 2



Gambar 4.6 Kromatogram berberin kondisi eluen asetonitril (A) : asam format (0,1%) (B) sistem gradien 3

Tabel 4.1 Hasil optimasi pemisahan masing-masing sistem gradien

Parameter Optimasi	Sistem Elusi	Metanol : As. Format (0,1%)		Asetonitril : As. Format (0,1%)	
		Standar	Sampel	Standar	Sampel
Resolusi	1	0,889	1,374	0,464	0,693
	2	1,608	1,592	1,267	0,860
	3	0,152	0,579	1,456	1,809
Waktu Retensi (menit)	1	11,93	11949	11,808	11,701
	2	15,202	15,372	12,714	13,083
	3	35,234	35,211	28,779	28,801
S/N	1	0,48	0,307	1,49	0,037
	2	4,21	3,166	0,24	0,367
	3	0,10	1,550	0,25	1,111

Kromatogram yang dihasilkan oleh sistem gradien seperti Gambar 4.1 – 4.6 terlihat memiliki banyak puncak. Meyer (2010) menjelaskan bahwa pada sistem gradien, perubahan komposisi fase gerak sebagai zat yang bermigrasi di dalam kolom dan mengalami interaksi dengan analit. Perubahan tersebut disertai dengan peningkatan kekuatan elusi fase gerak, sehingga puncak yang seharusnya terhambat atau bahkan tidak muncul menjadi terdeteksi oleh detektor. Pada sistem gradien dilakukan injek pelarut untuk memudahkan identifikasi puncak senyawa target. Seperti yang diungkapkan Haris (2007), analisis sistem gradien akan selalu memunculkan *ghost peaks* yang diakibatkan oleh pencampuran pelarut di dalam *mixer*. Hal tersebut akan menyulitkan identifikasi puncak senyawa target. Guna mengatasi hal tersebut, Meyer (2010) memberikan solusi untuk melakukan pemisahan pelarut yang dipakai untuk melarutkan sampel guna mendapatkan kromatogram referensi. Kromatogram referensi digunakan sebagai pembanding untuk identifikasi puncak senyawa target yang terdapat dalam kromatogram sampel maupun standar. Pelarut yang digunakan dalam sisten gradien harus

pelarut murni, karena apabila pelarut tersebut tidak murni dan terdapat pengotor maka akan menambah *ghost peaks* dalam kromatogram.

Proses pemisahan yang menghasilkan kromatogram seperti Gambar 4.1 – 4.6 tersebut terjadi akibat adanya interaksi antara kolom dan eluen dengan senyawa berberin. Interaksi yang terjadi adalah ikatan hidrogen, gaya Van der Waals, dan interaksi kepolaran. Interaksi ikatan hidrogen membuat senyawa berberin tertahan pada kolom. Gugus –OH pada kolom C-18 berinteraksi dengan atom O pada senyawa berberin sehingga terjadi ikatan hidrogen. Interaksi gaya Van der Waals terjadi antara molekul kolom dengan senyawa. Kekuatan interaksi gaya Van der Waals tidak lebih kuat daripada ikatan hidrogen. Akibat banyaknya ikatan hidrogen antara senyawa dengan material kolom membuat senyawa tertahan lebih lama dalam kolom (Gilpin, 2003). Interaksi yang terjadi tersebut berpengaruh terhadap waktu retensi puncak senyawa berberin. Semakin sedikit interaksi yang terjadi antara senyawa dengan fasa diam maka waktu retensi lebih cepat dan semakin banyak interaksi maka waktu retensi lebih lama.

Identifikasi pada Tabel 4.1 memperlihatkan nilai resolusi, waktu retensi, dan nilai S/N pada masing-masing sistem gradien. Harvey (2000) menyebutkan bahwa pemisahan yang baik memiliki resolusi $\geq 1,5$ dan semakin tinggi resolusi maka semakin baik pula pemisahannya. Tidak semua resolusi pemisahan standar dan berberin dalam sampel pada masing-masing sistem gradien memiliki nilai $\geq 1,5$. Hal tersebut dapat disebabkan karena penggunaan fase gerak dan sistem elusi yang tidak tepat untuk memisahkan berberin dengan pelarut. Pada fase gerak metanol : asam format (0,1%) yang memiliki resolusi pemisahan yang baik berada di sistem elusi 2, baik pada standar maupun sampel. Lain halnya pada fase gerak

asetonitril : asam format (0,1%) yang memiliki resolusi pemisahan $\geq 1,5$ berada di sistem elusi 3 pada pemisahan berberin dalam sampel.

Gambar 4.1 – 4.6 dan Tabel 4.1 memperlihatkan puncak berberin pada masing-masing sistem gradien muncul pada waktu retensi dan intensitas puncak yang berbeda-beda. Hal tersebut disebabkan adanya interaksi kepolaran antara fase gerak dengan senyawa berberin. Pada sistem gradien terjadi perubahan kepolaran fase gerak karena adanya perubahan komposisi fase gerak pada setiap sistem elusi. Berdasarkan interaksi kepolaran, senyawa akan larut dengan pelarut yang memiliki kepolaran yang sama. Senyawa berberin bersifat semipolar lebih ke polar, sehingga puncak berberin muncul pada waktu retensi yang menunjukkan perbandingan fase gerak yang bersifat semi polar lebih ke polar.

Hasil kromatogram yang menggunakan fase gerak metanol : asam format (0,1%) lebih baik dibandingkan kromatogram yang menggunakan fase gerak asetonitril : asam format (0,1%). Hal tersebut terlihat dari banyaknya puncak yang dihasilkan pada kromatogram standar dan pelarut. Pada kromatogram dengan fase gerak asetonitril : asam format (0,1%) lebih banyak menghasilkan puncak yang diduga *ghost peaks* karena juga muncul pada kromatogram referensi. Selain itu, puncak senyawa berberin yang muncul memiliki intensitas yang sangat kecil. Lain halnya dengan penggunaan fase gerak metanol : asam format (0,1%) yang menghasilkan kromatogram dengan puncak yang tidak terlalu banyak dan puncak senyawa berberin teridentifikasi dengan jelas.

Harvey (2000) mengungkapkan, fase gerak yang memiliki polaritas lebih tinggi akan mempercepat waktu retensi. Puncak berberin dengan fase gerak asetonitril : asam format (0,1%) berada di waktu retensi yang lebih cepat

dibandingkan fase gerak metanol : asam format (0,1%) yang ditunjukkan pada Tabel 4.1. Namun, cepatnya waktu retensi tersebut dapat membuat pemisahan kurang baik pada senyawa - senyawa yang memiliki kepolaran kurang tinggi. Penggunaan fase gerak dengan polaritas yang lebih rendah dapat digunakan untuk menangani hal tersebut. Indeks polaritas asetronitril lebih besar dari metanol, yaitu sebesar 5,8 sedangkan metanol sebesar 5,1. Senyawa berberin bersifat semi polar lebih ke polar, sehingga pemisahannya lebih bagus pada fase gerak yang memiliki polaritas lebih rendah seperti metanol. Selain itu, atom O pada berberin dapat berinteraksi dengan gugus -OH pada metanol yang menghasilkan ikatan hidrogen. Menurut Aburjai, dkk (2011), fase gerak asetronitril hanya dapat menerima ikatan hidrogen, sedangkan metanol dapat menerima dan menyumbangkan ikatan hidrogen. Hal yang demikian menyebabkan interaksi yang lebih kuat antara fase gerak metanol : asam format (0,1 %) dengan fase diam dan mengakibatkan proses pemisahannya lebih baik.

Sistem elusi 1, 2, dan 3 pada fase gerak metanol : asam format (0,1%) memiliki nilai resolusi dan waktu retensi yang berbeda-beda. Dari ketiga sistem elusi tersebut, sistem elusi 2 memiliki resolusi yang baik dalam pemisahan standar maupun sampel. Puncak berberin pada sistem elusi 1 fase gerak metanol : asam format (0,1%) muncul di waktu retensi pada perbandingan komposisi 88 : 12, pada sistem 2 muncul pada perbandingan komposisi 50 : 50, sedangkan pada sistem 3 muncul pada perbandingan komposisi 90 : 10. Pada perbandingan komposisi sistem elusi 1 dan 3 memiliki kepolaran yang lebih rendah daripada sistem elusi 2. Asam format (0,1%) dalam air memiliki kepolaran yang lebih tinggi dari pada metanol. Harvey (2000) menuliskan indeks polaritas air lebih

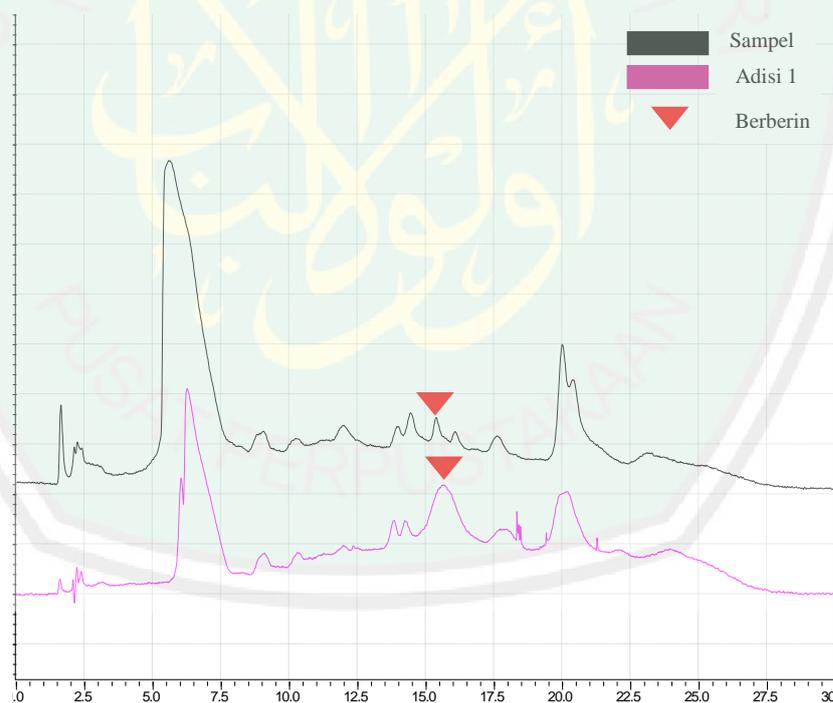
besar dari metanol, yakni sebesar 10,2. Hal tersebut menyebabkan senyawa berberin tidak terpisah secara baik pada sistem elusi 1 dan 3 yang memiliki komposisi perbandingan asam format (0,1%) lebih kecil dari metanol.

Beberapa penelitian pemisahan berberin menggunakan KCKT juga menghasilkan puncak senyawa pada perbandingan 50 : 50 dengan fase gerak yang metanol : buffer. Rahmawan (2018) telah membuktikan dengan sistem isokratik bahwa perbandingan tersebut menghasilkan pemisahan berberin yang baik. Mohan, dkk (2017) dalam penelitian juga memunculkan puncak senyawa berberin pada perbandingan 50 : 50 dengan fase gerak yang sama. Penelitian yang dilakukan Singh, dkk (2010) memperkuat hasil optimum pada sistem 2, dimana penelitian tersebut memunculkan puncak berberin pada waktu retensi 15,147 menit yang menggunakan sistem gradien dan fase gerak yang sama dengan penelitian ini.

Tabel 4.1 dan Gambar 4.1 – 4.6 menunjukkan bahwa pada sistem elusi 2 dengan fase gerak metanol : asam format (0,1%) memiliki hasil pemisahan yang lebih baik dari pada sistem elusi yang lain. Selain dari nilai resolusi dan perbandingan komposisi fase gerak yang baik dan tepat, pada sistem elusi 2 fase gerak metanol : asam format (0,1%) memiliki nilai S/N tertinggi, yakni sebesar 4,21 pada standar dan 3,166 pada sampel. Haris (2007) menyebutkan, pemisahan menggunakan metode gradien dikatakan baik apabila nilai $S/N \geq 3$. Sehingga, dapat dikatakan bahwa sistem elusi 2 dengan fase gerak metanol : asam format (0,1%) adalah hasil yang optimum.

4.4 Identifikasi Senyawa Berberin menggunakan Metode Adisi

Identifikasi senyawa berberin dilakukan dengan menggunakan metode adisi, yaitu penambahan standar berberin ke dalam sampel. Metode adisi bertujuan untuk memperjelas dan menambah intensitas puncak senyawa berberin yang muncul pada kromatogram (Skoog, dkk., 2004). Metode adisi sangat efisien untuk mengoreksi dan memberikan evaluasi terhadap puncak senyawa yang memiliki konsentrasi rendah dalam sampel. Selain itu, digunakan untuk mengetahui puncak senyawa yang tertutupi oleh puncak pengotor. Kegunaan lainnya yaitu untuk menentukan konsentrasi senyawa dalam sampel, sehingga dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui konsentrasi senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting (Cimetiere, dkk., 2013).



Gambar 4.7 Kromatogram identifikasi berberin menggunakan metode adisi eluen metanol : asam format (0,1%) sistem gradien 2

Sistem gradien yang digunakan untuk adisi adalah hasil optimum dari optimasi (fase gerak metanol : asam format (0,1%) sistem gradien 2). Intensitas puncak berberin meningkat setelah adanya penambahan standar dalam sampel. Hal tersebut sesuai dengan tujuan penggunaan metode adisi. Peningkatan intensitas tersebut terlihat jelas pada Gambar kromatogram 4.7. Seperti yang terlampir pada Lampiran 5.7 nilai resolusi pemisahan berberin sebesar 1,65. Sehingga dapat dikatakan pada metode adisi terjadi pemisahan dengan baik.

Puncak senyawa berberin berada pada waktu retensi sekitar 15 - 16 menit. Sampel memiliki waktu retensi yang lebih cepat dibandingkan dengan waktu retensi adisi. Puncak berberin pada kromatogram sampel muncul pada waktu retensi 15,372 menit, sedangkan pada adisi muncul pada 15,492 menit. Namun demikian, puncak yang dianggap sebagai puncak berberin mengalami kenaikan luas area puncak pada kromatogram adisi. Luas area puncak sampel sebesar 1327, sedangkan luas area puncak adisi sebesar 5279. Sehingga dapat disimpulkan bahwa puncak yang dimaksudkan adalah puncak senyawa berberin.

4.5 Penentuan Kadar Senyawa Berberin

Kadar senyawa berberin dihitung menggunakan metode adisi. Dimana luas area puncak adisi dikurangi dengan luas area puncak sampel, sehingga diperoleh luas area standar berberin. Selanjutnya kadar berberin dalam sampel dihitung dengan persamaan perbandingan konsentrasi standar dan luas area puncak. Didapatkan kadar senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting sebesar 33,578 ppm seperti yang terlampir dalam Lampiran 6. Adanya senyawa berberin dalam tanaman anting-anting telah diteliti sebelumnya

menggunakan LC-MS dan KCKT sistem isokratik, sehingga lebih mendukung adanya berberin dalam tanaman anting-anting (Husna, 2011., Lisiyana, 2016., Rosyidah, 2016., dan Rahmawan, 2018).

4.6 Integrasi Sains dengan Islam

Penelitian yang dilakukan ditujukan pada analisis senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan KCKT sistem gradien. Adanya senyawa berberin dapat dibuktikan dengan analisis menggunakan KCKT sistem gradien 2 fase gerak metanol : asam format (0,1%) dengan laju alir 1 mL/menit pada panjang gelombang 345 nm untuk memperoleh hasil yang maksimum. Kadar senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting sebesar 33,578 ppm. Adanya sifat farmakologi senyawa berberin maka tanaman anting-anting menunjukkan bahwa tanaman tersebut bermanfaat dan dapat digunakan sebagai obat.

Diketahuinya kadar senyawa berberin dalam tanaman anting-anting sesuai dengan firman Allah tentang segala penciptaan-Nya sesuai dengan ukuran masing-masing. Hal tersebut diisaratkan dalam Q.S. Al-Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: *Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*

Menurut Imam Ibnu Katsir dalam tafsir Ibnu Katsir (2004), Allah SWT telah memberikan ukuran masing-masing kepada setiap makhluk-Nya. Segala ciptaan-Nya telah ditetapkan kadarnya dalam segala hal, demikian pula dengan senyawa berberin dalam tanaman anting-anting. Diketahuinya kadar berberin dalam tanaman anting-anting dapat digunakan sebagai standarisasi pemanfaatan tanaman

anting-anting sebagai obat, sehingga dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai tanaman obat.

Beralih pada pemanfaatan tanaman anting-anting sebagai tanaman obat telah dibuktikan dalam penelitian sebelumnya, yakni sebagai antimalaria dan antidiabetes. Sebelum menjelaskan secara lebih spesifik terkait hal tersebut, terlebih dahulu akan dijelaskan mengenai penciptaan makhluk Allah termasuk tumbuhan, bahwa di dalamnya *pasti* memiliki manfaat masing-masing. Yaitu:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُّتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِنْ أَعْنَابٍ وَرِزْقٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَعَيْرٌ صِنَوَانٌ
يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفْضِلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لآيَاتٍ
لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: *Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebagian tanaman-tanaman itu atas sebagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.* (Qs. Ar-Ra'du ayat 4)

Setiap apa yang Allah ciptakan termasuk tanaman anting-anting memiliki manfaat. Seperti penggalan ayat berikut:

وَنُفْضِلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ

Kami melebihkan sebagian tanaman itu di atas sebagian yang lain tentang rasanya (manfaatnya), maka menurut Imam Ibnu Katsir di dalam tafsirnya dijelaskan bahwa Allah menciptakan berbagai macam tumbuhan itu dengan memiliki manfaat masing-masing. Termasuk di dalamnya akar, batang, daun, bunga, dan biji tanpa terkecuali tanamana anting-anting. Jika dicermati lebih dalam dan spesifik, kesekian banyak jenis tumbuhan itu berasal dari zat yang

sama yaitu air, namun terbukti bisa menghasilkan berbagai jenis tumbuhan. Disinilah letak kekuasaan Allah, sesuai dengan penutup ayat yang berbunyi:

إِنَّ فِي ذَلِكَ لآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda kebesaran (Allah) bagi mereka (kaum) yang berfikir.

Seluruh penjelasan integrasi di atas dapat menjelaskan bahwa Allah menciptakan berbagai macam tumbuhan dengan membawa manfaat masing-masing. Disamping hal tersebut, sesuatu yang tidak bisa ditinggalkan adalah mensyukuri atas segala nikmat dan karunia yang telah Allah SWT berikan, karena manusia tak bernilai apa-apa dihadapan-Nya.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil terbaik optimasi fase gerak dan sistem elusi yang digunakan untuk memisahkan senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting yakni menggunakan fase gerak metanol : asam format (0,1%) pada sistem elusi 0-10 menit dengan 80% asam format (0,1%), 10-20 menit dengan 50% asam format (0,1%), 20-25 menit dengan 50% asam format (0,1%), 25-30 menit dengan 80% asam format (0,1%).
2. Identifikasi senyawa berberin menggunakan metode adisi menghasilkan kenaikan intensitas pada kromatogram adisi dan puncak berberin berada pada waktu retensi 15,492 menit dengan resolusi pemisahan 1,65.
3. Kadar senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting (*Acalypha Indica* L.) yakni 33,578 ppm.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan validasi metode KCKT sistem gradien yang meliputi presisi, stabilitas, dan spesifitas dalam pemisahan senyawa berberin agar dapat digunakan untuk analisis secara rutin dan berkala.
2. Perlu adanya penambahan asam pada saat ekstraksi untuk meningkatkan kadar senyawa target, khususnya alkaloid berberin.
3. Perlu adanya peningkatan konsentrasi standar untuk meningkatkan intensitas puncak senyawa berberin.

4. Perlu dilakukan metode sistem isokratik pada hasil yang optimum untuk lebih membuktikan munculnya puncak senyawa berberin.
5. Perlu dilakukan identifikasi menggunakan LC-MS untuk mengetahui senyawa-senyawa yang ada dalam ekstrak etil asetat tanaman anting-anting.



DAFTAR PUSTAKA

- Al-Maraghi, A. M. 1992. *Tafsir Al-Maraghi (Terjemah)*. Semarang: Toha Putra.
- Aburjai, T., Alzweiri, M., Al-Hiari, Y. M. 2011. Temperature and Pressure Behaviours of Methanol, Acetonitrile/Water Mixture on Chromatographic Systems. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2: 934-937.
- Ariani, Ni Luh Kasih., Suaniti, Ni Made., dan Sibarani, James. 2015. Perbandingan Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Elusi Gradien dengan Isokratik pada Penentuan Vitamin B1, B2, dan B6 dalam Sediaan Sirup Multivitamin Secara Simultan. *Cakra Kimia Indonesia E-Journal of Applied Chemistry*, 3(1).
- Arsyad, M. N. 2001. *Kamus Kimia Arti dan Penjelasan Ilmiah*. Jakarta: Gramedia.
- Ashwini, U., Asha, S. 2017. In Vitro Antibacterial Activity of *Acalypha Indica* Linn Leaves Extract Against Gram Negative Bacteria. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 8(3): 195–198.
- Cimetiere, N., Soutrel, I., Lemasle, M., Laplanche, A., dan Crocq, A. 2013. Standard Addition Method for the Determination on Pharmaceutical Residues in Drinking Water by SPE-LC-MS/MS.
- Fadhilah, Ulum Sholihatul. 2016. Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat dan Ekstrak Kasar Alkaloid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) sebagai Antimalaria pada Parasit *Plasmodium Falciparum*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Falleh, H., Ksouri, R., Luchessi, M. E., Abdelly, C., dan Magne, C. 2012. Ultrasound-Assisted Extraction: Effect of Extraction Time and Solvent Power on the Levels of Polyphenols and Antioxidant Activity of *Mesembryanthemum edule* L. *Aizoaceae* Shoots. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(2): 243-249.
- Feng, Zhang., Qi, Yang., Lian-Na, Sun., Hong, Gao S., Xia, Tao., dan Sheng, Chen W. 2014. Fingerprint Analysis of Zhimu-Huangbai Herb Pair and Simultaneous Determination of its Alkaloids, Xanthone Glycosides and Steroidal Saponins by HPLC-DAD-ELSD. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(7): 0525-0534.
- Garcia, J. L. L., Castro, M. L. L. 2004. Ultrasound-assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to the Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds. *Journal of Chromatography*.

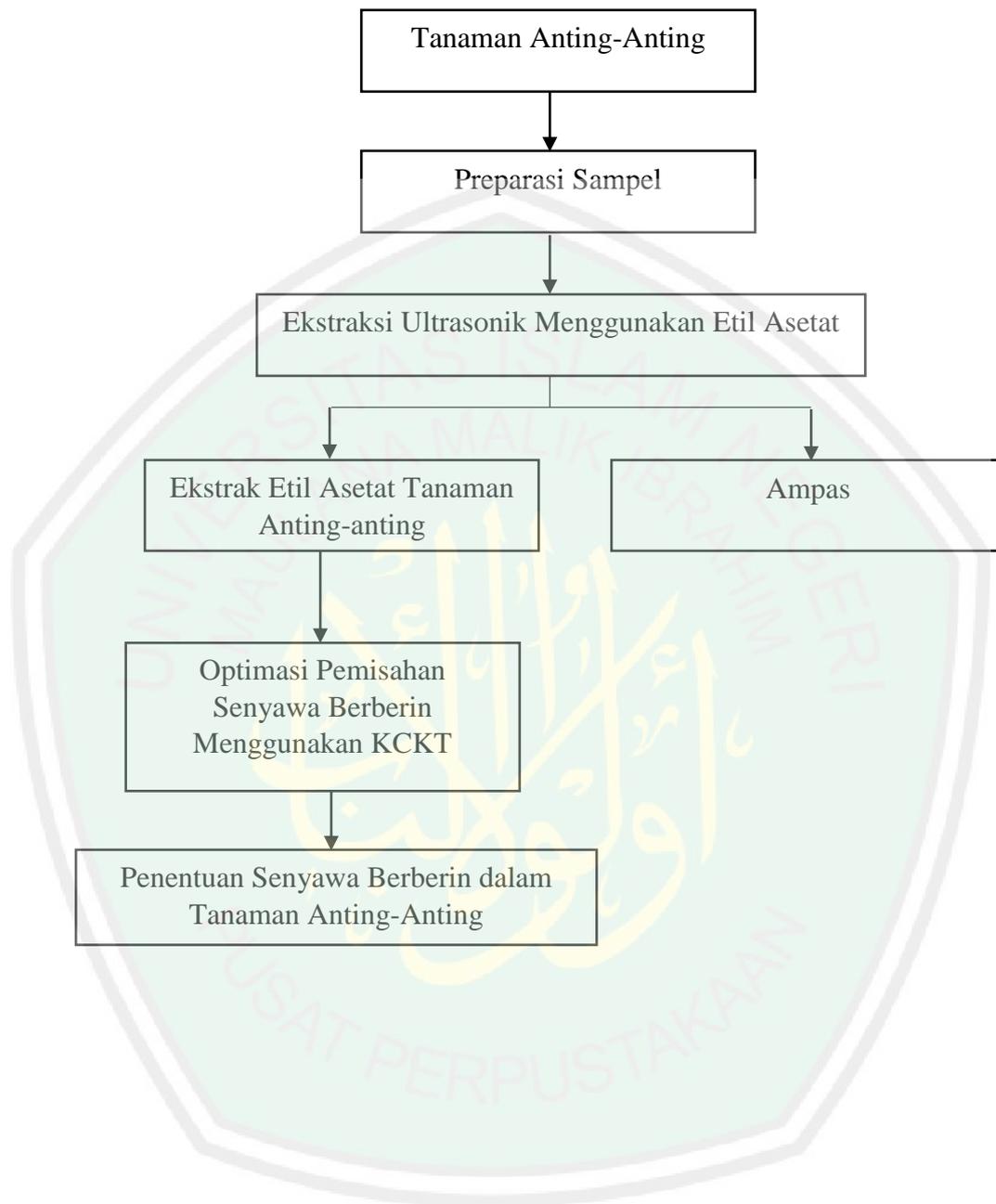
- Gandjar, I. G., Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gilpin, R. K. 2003. Liquid Chromatography Problem Solving and Troubleshooting. *Journal of Chromatographic Science*, 4(1): 223-224.
- Godipurge, S. S., Biradar, J. S., Mahurkar, N. 2015. Phytochemical and Pharmacological Evaluation of *Acalypha indica* Linn in Experimental Animal Models, 6(4): 7.
- Gondaliya, A. V., Vikani, K., Kapupara, P. P. 2014. Development and Validation of Analytical Method for Simultaneous Estimation of Berberine Hydrochloride And Embelin in Polyherbal Formulation, 11.
- Grycova, L., Dostál, J., Marek, R. 2007. Quarternary Protoberberine Alkaloids. *Phytochemistry*, 68: 150-175.
- Harris, Daniel C. 2007. *Quantitative Chemical Analysis Seventh Edition*. W. H. New York: Freeman and Company.
- Hartuti, S., Supardan, M. D. 2013. *Response Surface Methodology (RSM)*, 33(4): 9.
- Harvey, David. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. New York: Mc Graw Hill.
- Hayati, E. K., Halimah, N. 2010. Against *Artemia salina* Leach of Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) Plant Extract. *Alchemy*, 1(2): 8.
- Hayati, E. K., Jannah, A., Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria in Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Molekul*, 7(1): 20.
- Husna, A. N. 2011. Identifikasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Achalipa Indica* Linn) dan Uji Aktifitas Antimalaria in Vivo pada Hewan Uji. *Skripsi Tidak Diterbitkan*: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hutapea, J. R. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ibnu Katsir, Al-Imam Abu Fida Isma'il. *Terjemahan Tafsir Ibn Katsir*. 2004. Jakarta: Sinar Baru Al-Gensindo.
- Ishak, F. D. 2013. In Vitro Study of Antimicrobial Activity of *Acalypha Indica* Linn Extract. *The Open Conference Proceedings Journal*, 4(1): 57–60.

- Jambrak, A. R. 2012. Application of High Power Ultrasound and Microwave in Food Processing: Extraction. *Journal of Food Processing & Technology*, 03(12).
- Kementrian Agama RI. 2010. Al-Quran dan Tafsirnya (Edisi yang Disempurnakan). Jakarta: Ikrar Mandiriabadi.
- Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.S., Dangles, O., Chemat, F. 2010. Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols (Flavanone Glycosides) from Orange (*Citrus sinensis* L.) Peel. *Food Chemistry*, 119(2): 851–858.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*: USU Repository.
- Lisiyana, N. 2016. Isolasi Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.) dengan Variasi Kecepatan Laju Alir menggunakan Kromatografi Kolom. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Luliana, S., Purwanti, N. U., dan Manihuruk, K. N. 2016. Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Pharm Sci Res*, 3(3).
- Meyer, V. R. 2010. *Practical High-Performance Liquid Chromatography Fifth Edition*. Switzerland: Wiley.
- Mohan, M. C., Abhimannue, A. P., Kumar, B. P. 2017. Identification and Characterization of Berberine in *Tinospora cordifolia* by Liquid Chromatography Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry (LC MS/MS Q-tof) and Evaluation of its Anti Inflammatory Potential. *Pharmacognosy Journal*, 9(3): 350–355.
- Ningrum, R., Purwanti, E., Sukarsono, S. 2017. Alkaloid Compound Identification of *Rhodomyrtus tomentosa* Stem as Biology Instructional Material for Senior High School X Grade. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3): 231.
- Nurhamidah. 2005. Penentuan Kondisi Optimum HPLC untuk Pemisahan Residu Pestisida Imidaklopid, Profenofos dan Deltametrin pada Cabai (*Capsicum annum*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 7 (2): 87-93.
- Owen, Sonia. 2006. *Material Safety Data Sheet*. Spectrum.
- Pambudi, A., Noriko, N., Swandari, R., Azura, P. R. 2014. Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.), 3(10).

- Pfoze, N., Myrboh, B., Kumar, Y., Rohman, R. 2014. Isolation of Protoberberine Alkaloids from Stem Bark of *Mahonia manipurensis* Takeda Using RP-HPLC, 2(2): 10.
- Putra, E. D. L. 2004. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Bidang Farmasi*. Medan: USU.
- Qoriati, Y. 2018. Optimasi Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Kadar Alkaloid Total pada Tanaman Anting-Anting (*Achalypha Indica* L.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Rahmawan, A. Z. F., Hayati, E. K. 2018. Optimasi Laju Alir dan Fase Gerak pada Pemisahan Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rivai, H., Nurdin, h., Suyani, H., dan Bakhtiar, A. 2010. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Perolehan Ekstraktif, Kadar Senyawa Fenolat dan Aktivitas Antioksidan dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC.). *Majalah Obat Tradisional*, 15(1): 26-33.
- Rosyidah, H. 2016. Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Achalypha Indica* Linn) Sebagai Herba Antimalaria. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Safitri, E.W. 2018. Optimasi Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif Alkaloid pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) serta Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis Hippuris*), 1(3): 10.
- Schellinger, Adam P., dan Carr Peter W. 2006. Isocratic and Gradient Elution Chromatography: A Comparison in Terms of Speed, Retention Reproducibility and Quantitation. *Journal of Chromatography A*, 1109(2006): 253-266.
- Schramm, A., Baburin, I., Hering, S., Hamburger, M. 2011. hERG Channel Inhibitors in Extracts of *Coptidis rhizoma*. *Planta Medica*, 77(07): 692–697.

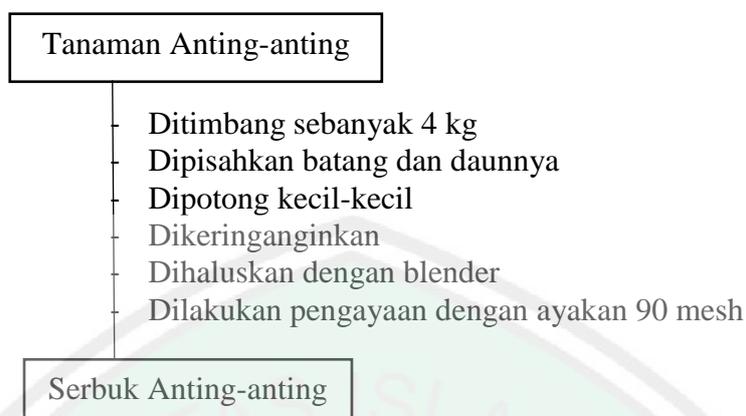
- Shigwan, H., Saklani, A., Hamrapurkar, P. D., Mane, T., Bhatt, P. 2013. HPLC Method Development and Validation for Quantification of Berberine from *Berberis aristata* and *Berberis tinctoria*, 9.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta : Penerbit Lentera Hati.
- Shirsath, S. R., Sonawane, S. H., Gogate, P. R. 2012. Intensification of Extraction of Natural Products Using Ultrasonic Irradiations—A Review of Current Status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 53: 10–23.
- Singh, R., Katiyar, C., Pasrija, A. 2010. Validated HPLC-UV Method for the Determination of Berberine in Raw Herb Daruharidra (*Berberis aristata* DC), its Extract, and in Commercially Marketed Ayurvedic Dosage forms. *International Journal of Ayurveda Research*, 1(4): 243.
- Skoog, D. A., West, D. M. Holler, F. J., dan Crouch, S. R. 2004. *Fundamental of Analytical Chemistry Eighth Edition*. Belmont (CA): Thomson Learning Inc.
- Syarifah, V. B. 2017. Analisis Sidik Jari Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Kendali Mutu Brotowali (*Tinospora crispa*), 36.
- Tambun, R., Limbong, H. P., Pinem C., dan Manurung, E. 2016. Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu, dan Suhu pada Ekstraksi Fenol dan Lengkuas Merah. *Jurnal Teknik Kimia*, 5(4): 53-56.
- Vankar, P. S., Srivastava, J. 2010. Ultrasound-Assisted Eztraction in Different Solvents for Phytochemical Study of *Canna indica*. *International Journal of Food Engineering*, 6(3).
- Vipul, U., Neeru, S., Amit, T. K., Joshi, H. M., Amreesh, M., Brijpal, S., dan Bahadur., K. S. 2013. Standardization of HPLC Method of Scopoletin in Different Extracts of *Convolvulus pliricalus*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 5(1): 28-31.
- Yasmin, C., Eriani, K., Sari, W. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Akar Anting-Anting (*Acalypha Indica* L), 9.

Lampiran 1. Skema Kerja

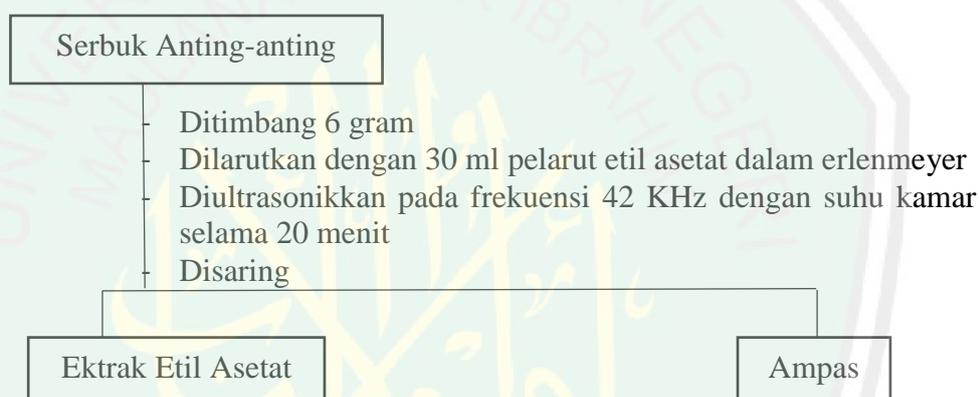


Lampiran 2. Diagram Alir

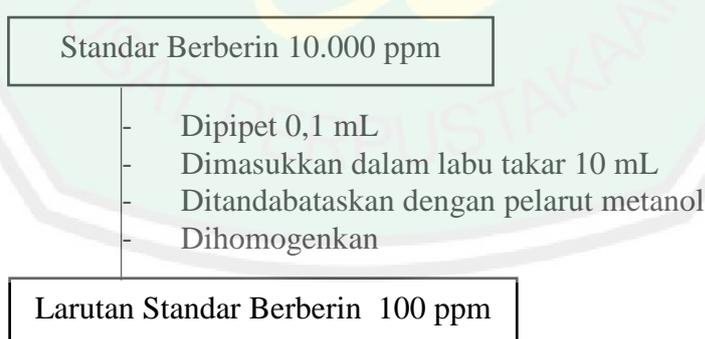
2.1 Preparasi Sampel



2.2 Ekstraksi Sampel



2.3 Preparasi Larutan Standar Berberin



2.4 Pembuatan Fase Gerak KCKT

Metanol KCKT Grade

- Diultrasonikkan sebanyak 500 mL selama 20 menit

Hasil

Asetonitril KCKT Grade

- Diultrasonikkan sebanyak 500 mL selama 20 menit

Hasil

Asam Format

- Diambil sebanyak 0,5 mL
- Dimasukkan labu takar 500 mL
- Ditandabatkan menggunakan akuabides
- Dihomogenkan

0,1% Buffer Asam Format

2.5 Optimasi Pemisahan Menggunakan KCKT

Standard berberin 100 ppm, sampel, pelarut (blanko)

- Diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam injector alat KCKT
 - Disiapkan fase gerak metanol : as. format (0,1%) dan asetonitril : as. format (0,1%) dengan laju alir 1,0 mL/min
 - Divariasi sistem eluen

NO	WAKTU (MENIT)	SISTEM ELUSI
1.	0 – 6	100% As. format : 0% Metanol
	7 – 11	50% As. format : 50% Metanol
	12 – 14	12% As. format : 88% Metanol
	15 – 20	100% As. format : 0% Metanol
2.	0 – 10	80% As. format : 20% Metanol
	10 – 20	50% As. format : 50% Metanol
	20 – 25	50% As. format : 50% Metanol
	25 – 26	80% As. format : 20% Metanol
	26 – 30	80% As. format : 20% Metanol
3.	0 – 5	90% As. format : 10% Metanol
	5 – 30	40% As. format : 60% Metanol
	30 – 55	10% As. format : 90% Metanol
	55 – 60	90% As. format : 10% Metanol
4.	0 – 6	100% As. format: 0% ACN
	7 – 11	50% As. format : 50% ACN
	12 – 14	12% As. format : 88% ACN
	5 – 18	100% As. format : 0% ACN
5.	0 – 10	80% As. format : 20% ACN
	10 – 20	50% As. format : 50% ACN
	20 – 25	50% As. format : 50% ACN
	25 – 26	80% As. format : 20% ACN
	26 – 30	80% As. format : 20% ACN
6.	0 – 5	90% As. Format : 10% ACN
	5 – 30	40% As. Format : 60% ACN
	30 – 55	10% As. Format : 90% ACN
	55 – 60	90% As. Format : 10% ACN

- Dicatat waktu retensi pada masing-masing fase gerak

Hasil

2.6 Identifikasi Senyawa Berberin dalam Tanaman Anting-Anting

Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting

- Diinjeksikan kedalam alat KCKT sebanyak 20 μ L
- Kondisi kromatografi sesuai hasil optimasi
- Diamati puncak yang muncul

Hasil

Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting

- Ditambah larutan standar berberin
- Diinjeksikan kedalam alat KCKT sebanyak 20 μ L
- Kondisi kromatografi sesuai hasil optimasi
- Diamati puncak yang muncul

Hasil

Lampiran 3. Pembuatan Larutan

3.1 Pembuatan Larutan Standar Berberin

Diketahui : $M_1 = 10.000 \text{ ppm}$

$M_2 = 100 \text{ ppm}$

$V_2 = 10 \text{ mL}$

Ditanya : $V_1 ?$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1000 \text{ mL}}{10.000}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

3.2 Pembuatan Larutan Buffer Asam Format (0,1%) (v/v)

Diketahui : $M_1 = 100\%$

$M_2 = 0,1 \%$

$V_2 = 500 \text{ mL}$

Ditanya : $V_1 ?$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100\% \times V_1 = 0,1\% \times 500 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{0,5 \text{ mL}}{100\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Lampiran 4. Perhitungan Nilai *Signal to Noise* (S/N)

4.1 Kondisi Fase Gerak Metanol : Asam Format (0,1%) pada Standar

Sistem Elusi 1	Sistem Elusi 2	Sistem Elusi 3
$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{4508}{9251}$ $S/N = 0,48$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{7221}{1714}$ $S/N = 4,21$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{7202}{48012}$ $S/N = 0,10$

4.2 Kondisi Fase Gerak Metanol : Asam Format (0,1%) pada Sampel

Sistem Elusi 1	Sistem Elusi 2	Sistem Elusi 3
$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{3003}{9792}$ $S/N = 0,307$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{7203}{1327}$ $S/N = 3,166$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{7203}{4647}$ $S/N = 1,550$

4.3 Kondisi Fase Gerak Asetonitril : Asam Format (0,1%) pada Standar

Sistem Elusi 1	Sistem Elusi 2	Sistem Elusi 3
$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{3001}{2008}$ $S/N = 1,49$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{5413}{22191}$ $S/N = 0,24$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$ $S/N = \frac{7201}{29945}$ $S/N = 0,24$

4.4 Kondisi Fase Gerak Asetonitril : Asam Format (0,1%) pada Sampel

Sistem Elusi 1	Sistem Elusi 2	Sistem Elusi 3
$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$	$S/N = \frac{\text{signal}}{\text{noise}}$
$S/N = \frac{4514}{122991}$	$S/N = \frac{3603}{9810}$	$S/N = \frac{7203}{6486}$
$S/N = 0,037$	$S/N = 0,367$	$S/N = 1,111$



Lampiran 5. Perhitungan Nilai Resolusi Pemisahan Senyawa Berberin

5.1 Sistem Elusi 1 Fase Gerak Metanol : Asam Format (0,1%)

Standar	Sampel
$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$	$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$
$R = \frac{2(12,41 - 11,93)}{0,09 + 0,18}$	$R = \frac{2(12,351 - 11,949)}{0,135 + 0,18}$
$R = 0,889$	$R = 2,55$

5.2 Sistem Elusi 2 Fase Gerak Metanol : Asam Format (0,1%)

Standar	Sampel
$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$	$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$
$R = \frac{2(15,998 - 15,202)}{0,36 + 0,27}$	$R = \frac{2(16,012 - 15,372)}{0,27 + 0,18}$
$R = 2,527$	$R = 2,867$

5.3 Sistem Elusi 3 Fase Gerak Metanol : Asam Format (0,1%)

Standar	Sampel
$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$	$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$
$R = \frac{2(35,394 - 35,234)}{0,21 + 0,105}$	$R = \frac{2(35,211 - 34,542)}{0,21 + 0,42}$
$R = 1,016$	$R = 2,12$

5.4 Sistem Elusi 1 Fase Gerak Asetonitril : Asam Format (0,1%)

Standar	Sampel
$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$	$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$
$R = \frac{2(11,975 - 11,808)}{0,09 + 0,045}$	$R = \frac{2(11,701 - 11,545)}{0,09 + 0,09}$
$R = 2,47$	$R = 1,73$

5.5 Sistem Elusi 2 Fase Gerak Asetonitril : Asam Format (0,1%)

Standar	Sampel
$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$	$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$
$R = \frac{2(13,170 - 12,714)}{0,24 + 0,36}$	$R = \frac{2(13,599 - 13,083)}{0,12 + 0,36}$
$R = 3,04$	$R = 2,15$

5.6 Sistem Elusi 3 Fase Gerak Asetonitril : Asam Format (0,1%)

Standar	Sampel
$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$	$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$
$R = \frac{2(28,801 - 28,779)}{0,22 + 0,11}$	$R = \frac{2(29,398 - 28,801)}{0,11 + 0,44}$
$R = 0,133$	$R = 2,17$

5.7 Sistem Elusi Adisi

$R = \frac{2(tR2 - tR1)}{W2 - W1}$
$R = \frac{2(15,492 - 14,008)}{1,5 + 0,3}$
$R = 1,65$

Lampiran 6. Perhitungan Kadar Senyawa Berberin

$$\text{Luas area puncak sampel} = 1327$$

$$\text{Luas area puncak adisi} = 5279$$

$$\begin{aligned}\text{Luas area puncak standar} &= \text{Luas area adisi} - \text{Luas area sampel} \\ &= 5279 - 1327 = 3952\end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi standar} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{\text{Luas area puncak standar} \times \text{Konsentrasi standar}}{\text{Luas area puncak sampel} \quad \text{Konsentrasi sampel}}$$

$$\frac{3952 \times 100 \text{ ppm}}{1327 \quad \text{Konsentrasi sampel}}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi sampel} &= \frac{1327 \times 100 \text{ ppm}}{3952} \\ &= 33,578 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

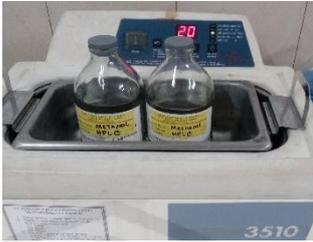
7.1 Preparasi Sampel Tanaman Anting-Anting

		
<p>Gambar 1. Anting-anting</p>	<p>Gambar 2. Anting-anting setelah dikeringkan</p>	<p>Gambar 3. Serbuk Anting-anting</p>

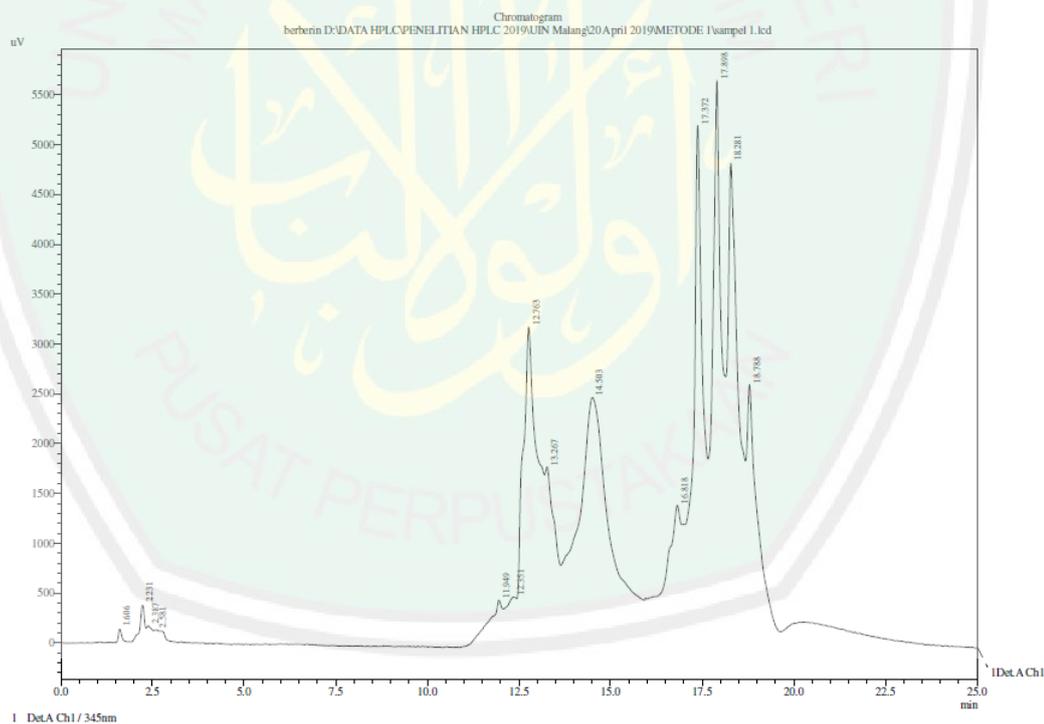
7.2 Ekstraksi Ultrasonik

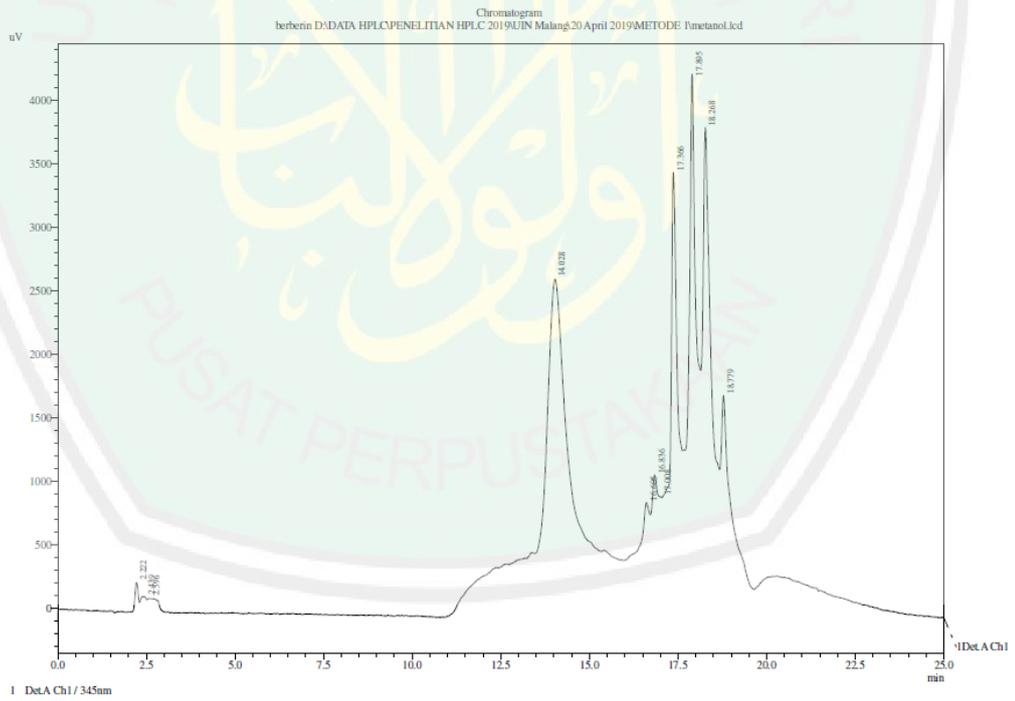
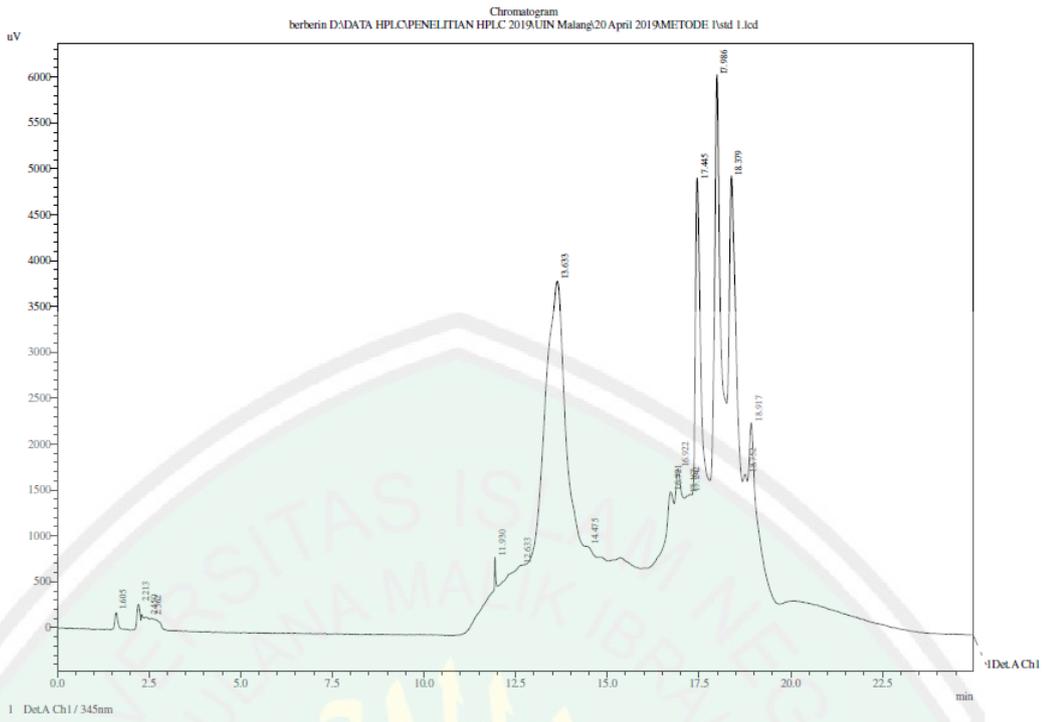
		
<p>Gambar 1. Proses ekstraksi ultrasonik</p>	<p>Gambar 2. Ekstrak etil asetat</p>	<p>Gambar 3. Penyaringan ekstrak</p>

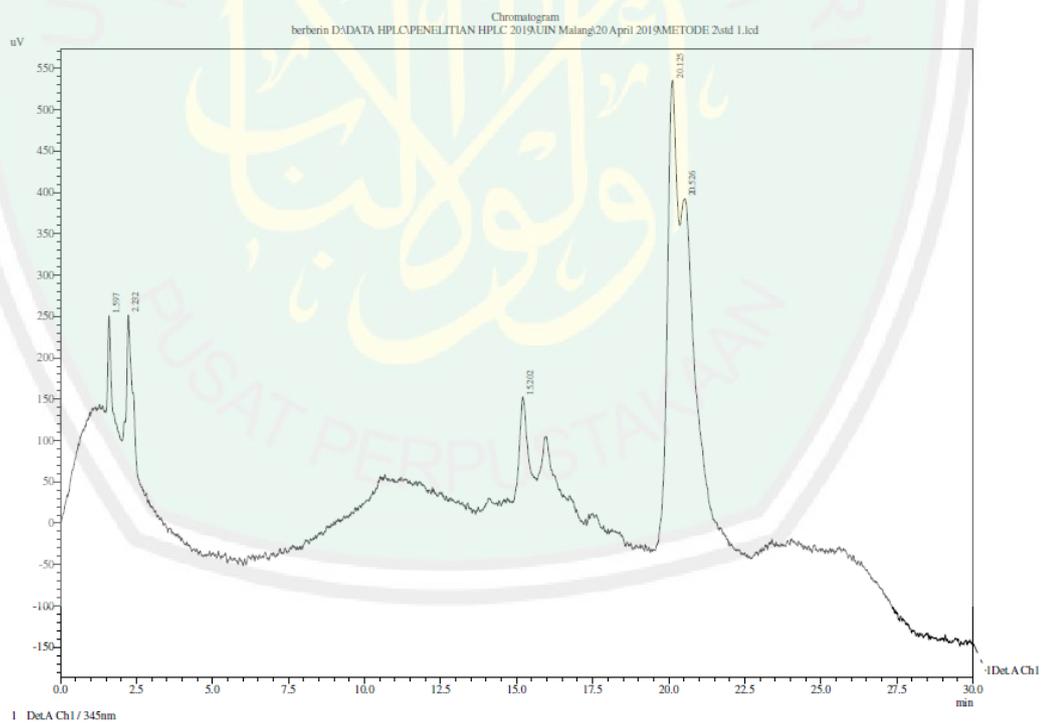
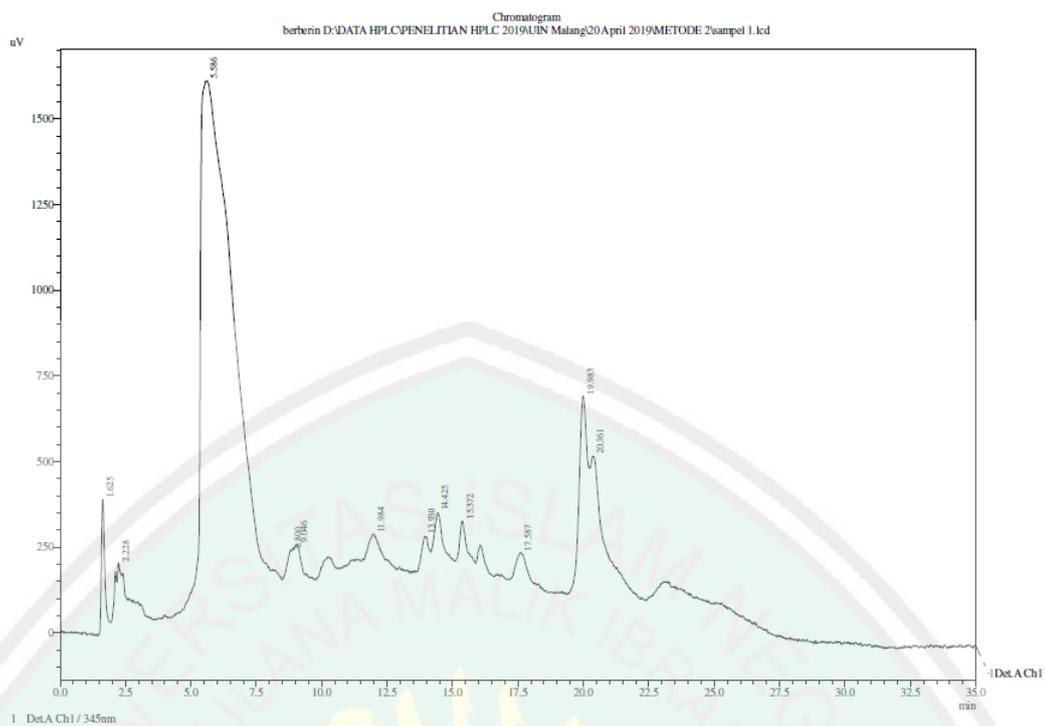
7.3 Optimasi menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

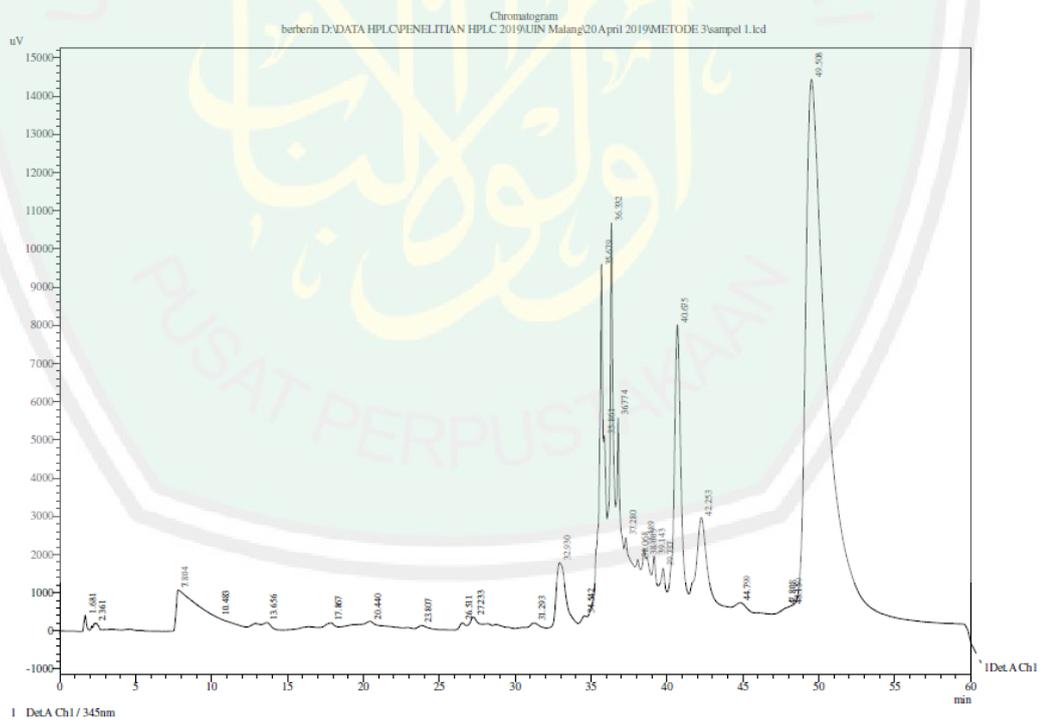
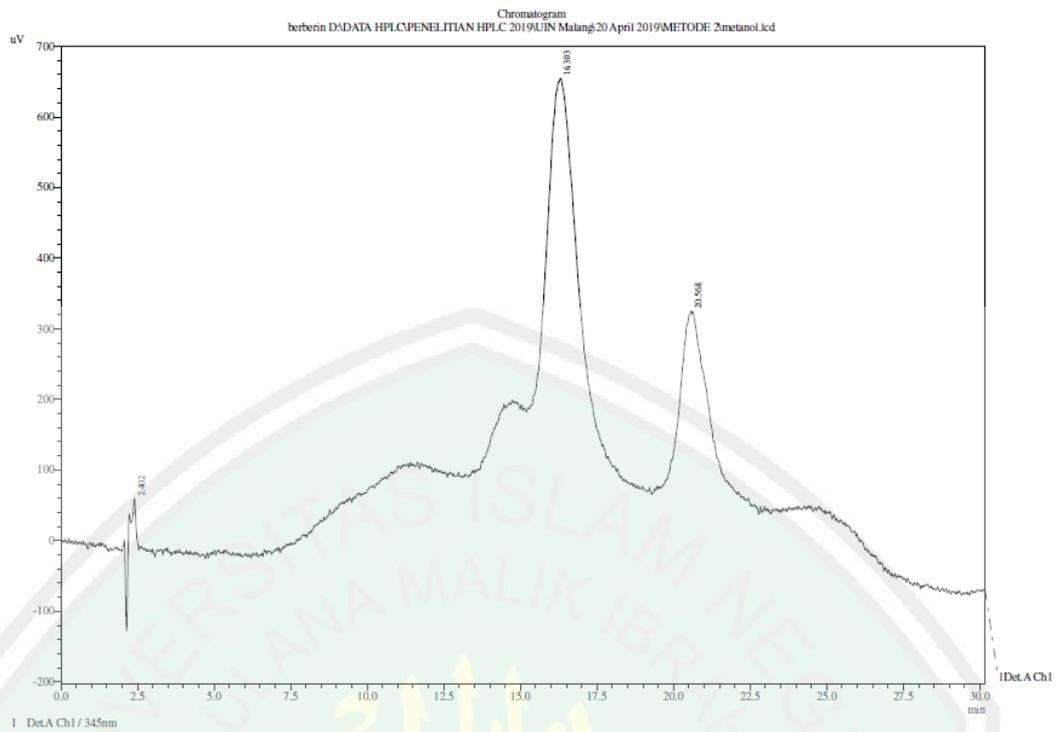
		
<p>Gambar 1. Penyaringan sampel dengan membran filter</p>	<p>Gambar 2. Preparasi fase gerak</p>	<p>Gambar 3. Proses elusi menggunakan KCKT</p>

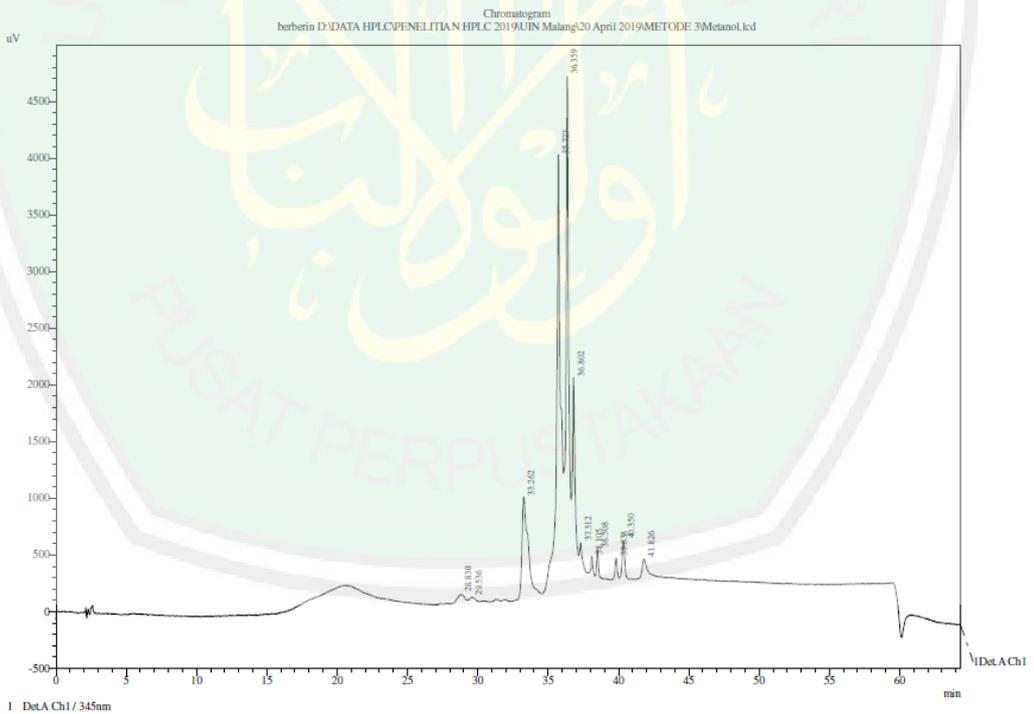
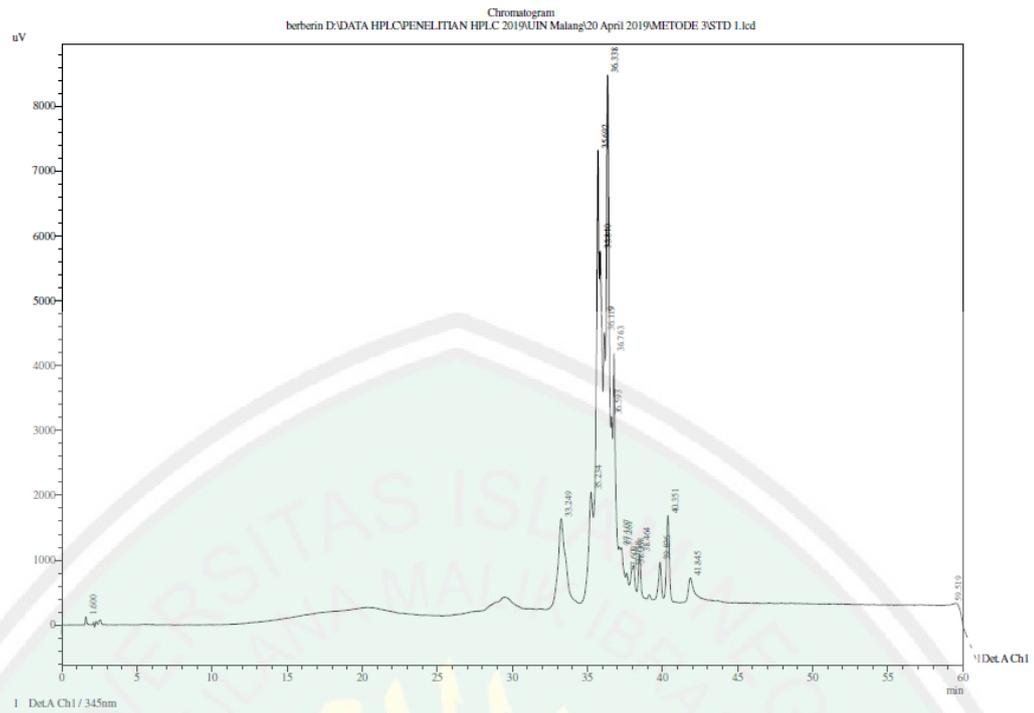
7.4 Hasil Optimasi dan Identifikasi menggunakan KCKT

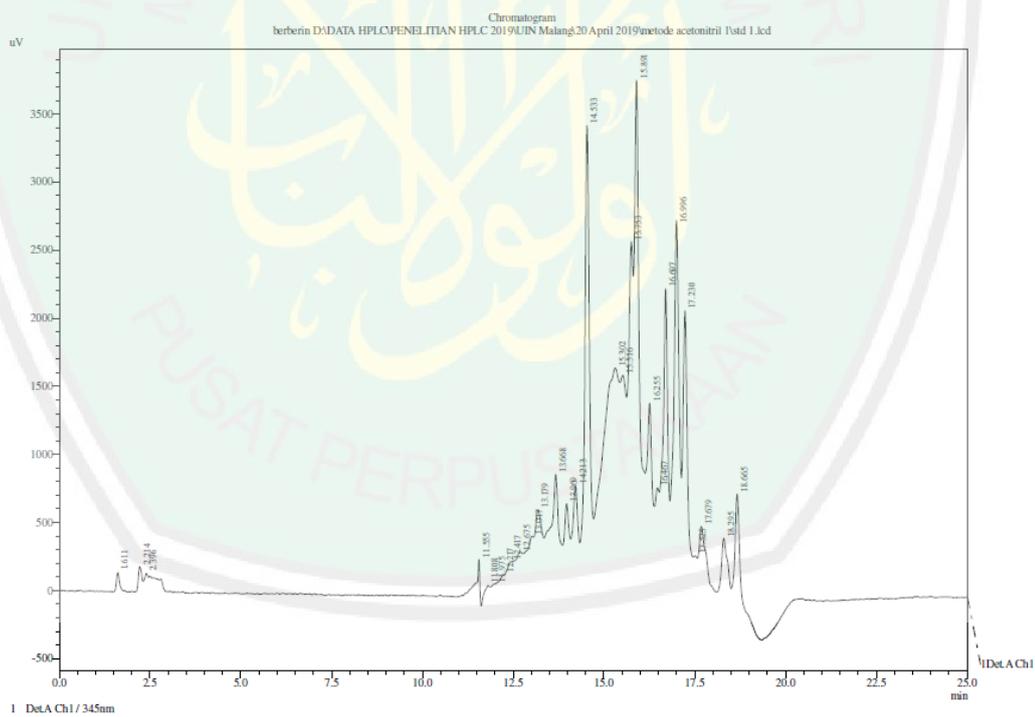
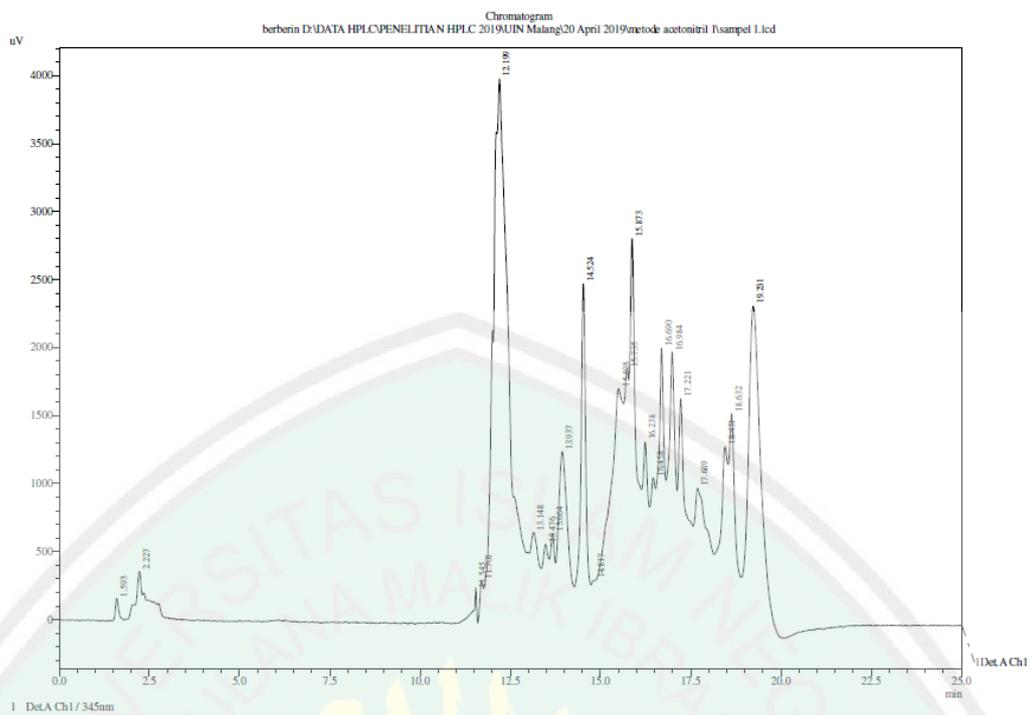


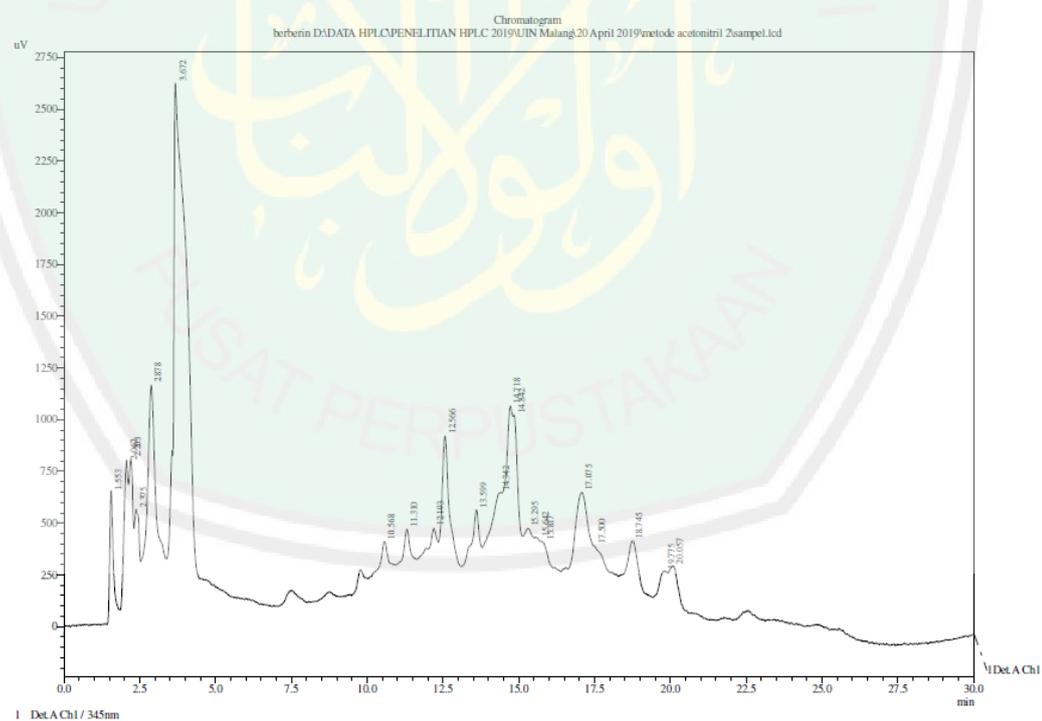
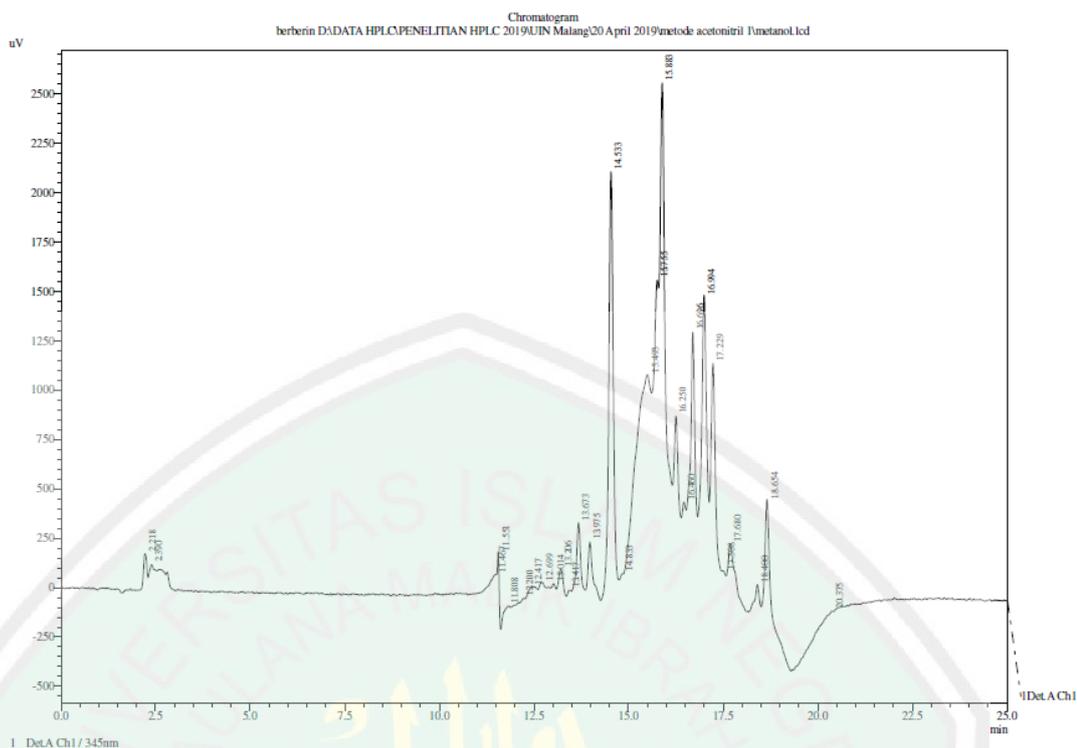


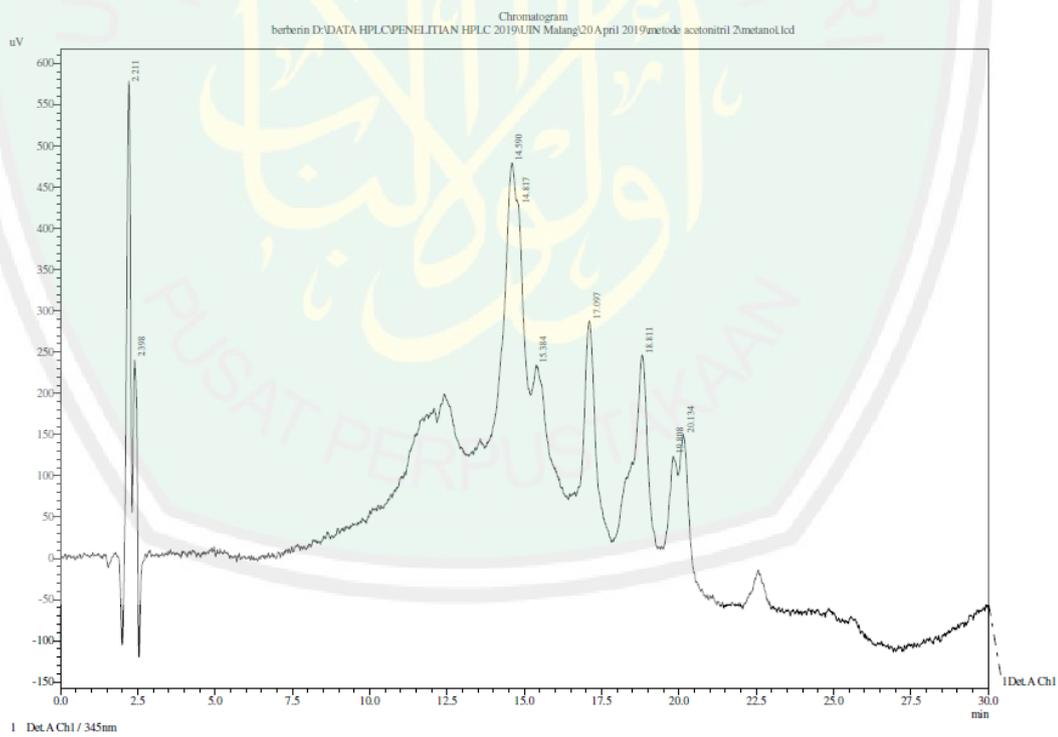
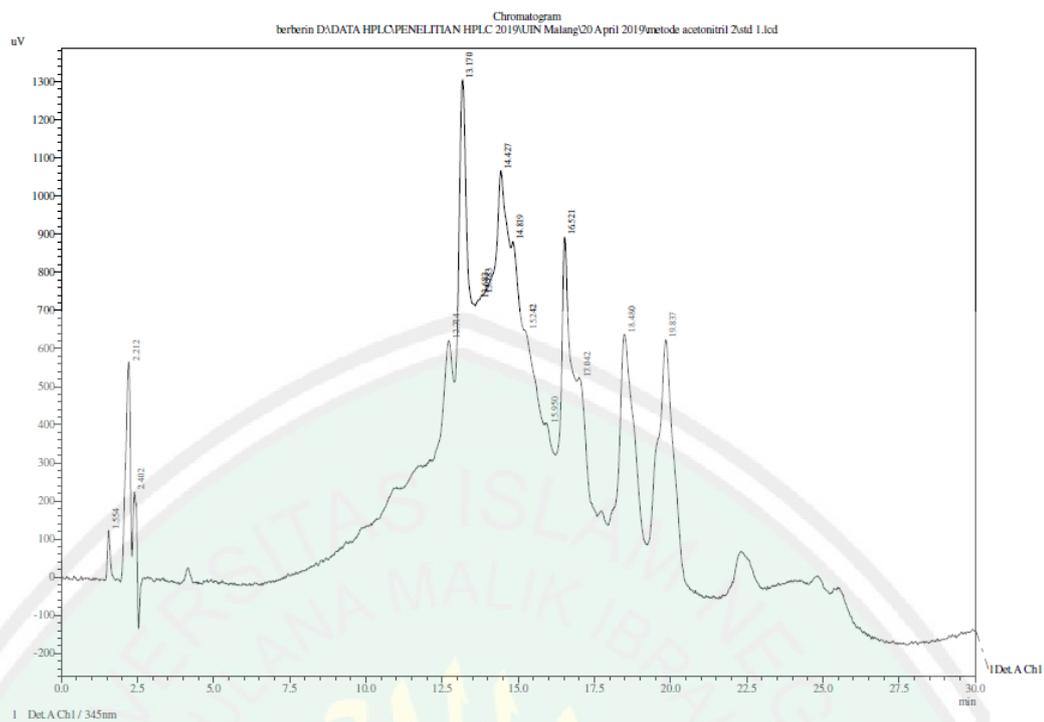


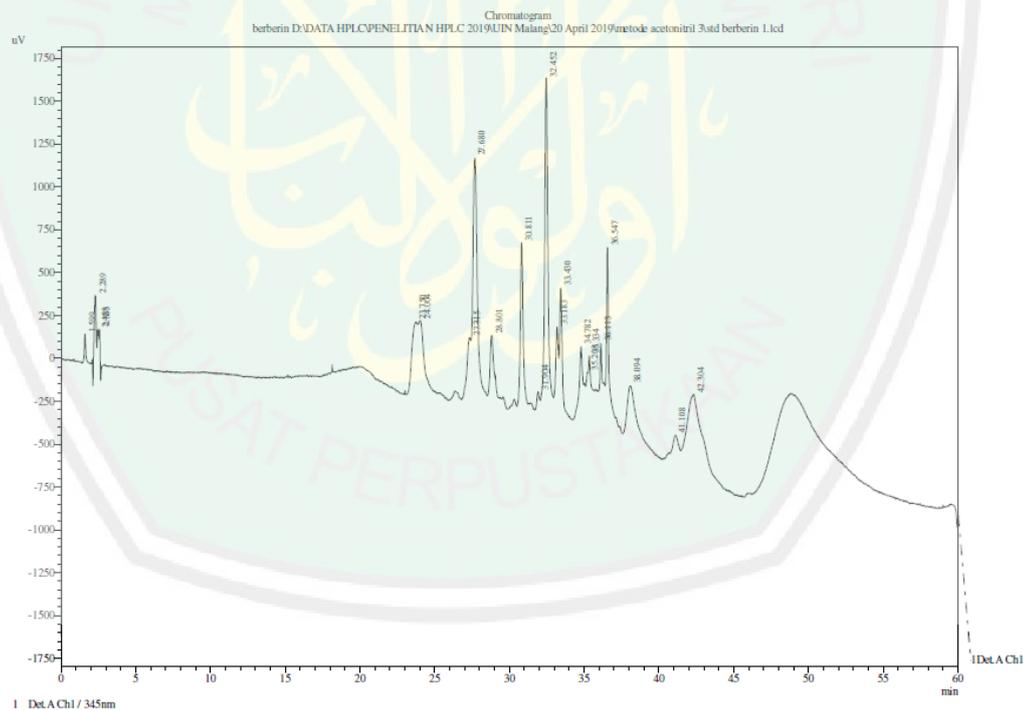
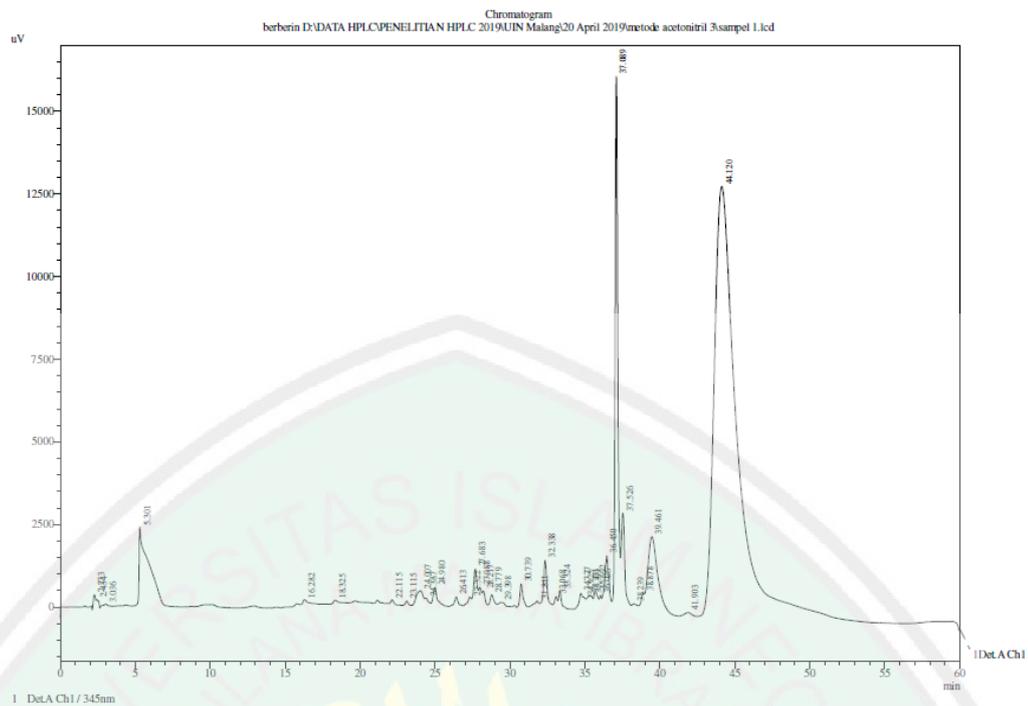


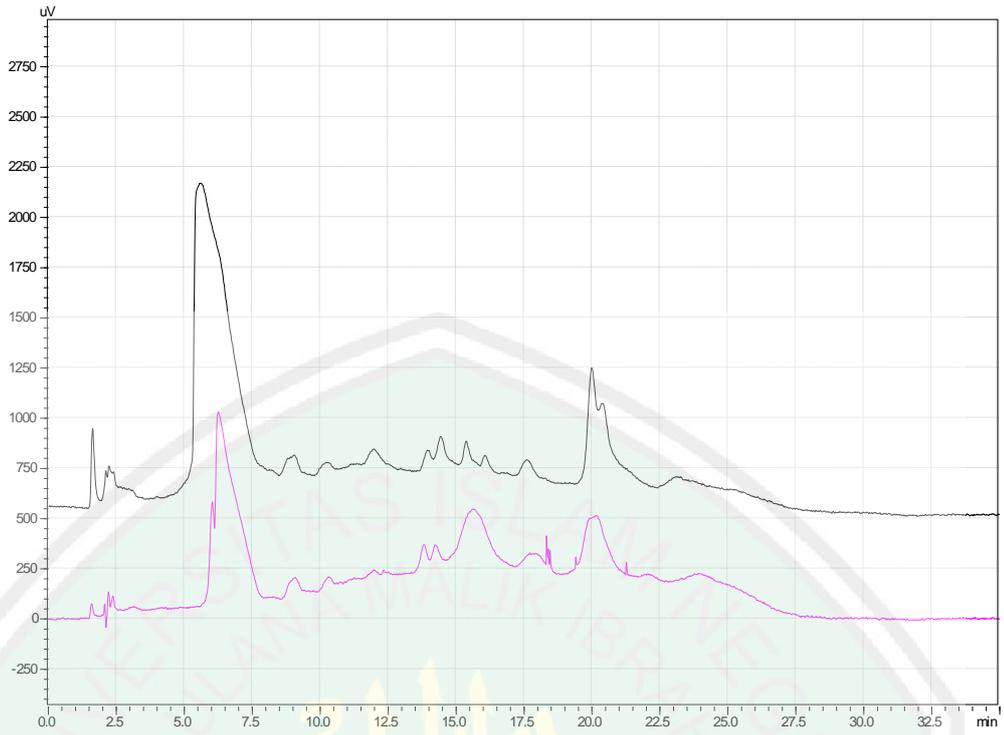












Lampiran 8. Jumlah *Noise* dan Luas Area Puncak Berberin

8.1 Standar

	Metanol : As. Format (0,1%)			Asetonitril : As. Format (0,1%)		
	Metode 1	Metode 2	Metode 3	Metode 1	Metode 2	Metode 3
<i>Noise</i>	9251	1714	48012	2008	22191	29945
Luas Area	4508	7221	7202	3001	5413	7201

8.2 Sampel

	Metanol : As. Format (0,1%)			Asetonitril : As. Format (0,1%)		
	Metode 1	Metode 2	Metode 3	Metode 1	Metode 2	Metode 3
<i>Noise</i>	93003	4201	7203	4514	3603	7203
Luas Area	9792	1327	4647	122991	9810	6486